

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
28 septembre 2000 (28.09.2000)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 00/56342 A3

- (51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 31/70, C07H 21/00
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR00/00676
- (22) Date de dépôt international : 17 mars 2000 (17.03.2000)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
99/03433 19 mars 1999 (19.03.1999) FR
- (71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : ASSIS-
TANCE PUBLIQUE-HOPITAUX DE PARIS [FR/FR];
3, avenue Victoria, F-75004 Paris (FR). INSTITUT NA-
TIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE
MEDICALE [FR/FR]; 101, rue de Tolbiac, F-75654 Paris
Cedex 13 (FR).
- (72) Inventeur; et
- (75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : CARPEN-
TIER, Antoine [FR/FR]; 28, avenue Bosquet, F-75007
Paris (FR).
- (74) Mandataire : CABINET ORES; 6, avenue de Messine,
F-75008 Paris (FR).
- (81) États désignés (national) : AU, CA, JP, US.
- (84) États désignés (régional) : brevet européen (AT, BE, CH,
CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE).
- Publiée :
— avec rapport de recherche internationale
- (88) Date de publication du rapport de recherche
internationale: 26 juillet 2001
- En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

WO 00/56342 A3

(54) Title: USE OF STABILISED OLIGONUCLEOTIDES FOR PREPARING A MEDICINE WITH ANTITUMOUR ACTIVITY

(54) Titre : UTILISATION D'OLIGONUCLEOTIDES STABILISES POUR LA PREPARATION D'UN MEDICAMENT A AC-
TION ANTITUMORALE

(57) Abstract: The invention concerns the use of stabilised oligonucleotides comprising at least an octamer motif of the type:
5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-X₁X₂-3' wherein the pair X₁-X₂ is AT, AA, CT or TT, for preparing a medicine with
antitumour activity.

(57) Abrégé : Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins un motif octamérique du type: 5'-purine-pu-
rine-CG-pyrimidine-pyrimidine-X₁X₂-3', dans lequel la paire X₁-X₂ est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à
action antitumorale.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem: Internationale No

PCT/FR 00/00676

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K31/70 C07H21/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K C07H

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

STRAND, EPO-Internal, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 855 184 A (HEEG KLAUS PROF DR ;LIPFORD GRAYSON B DR (DE); WAGNER HERMANN PROF) 29 juillet 1998 (1998-07-29) * Séquence N. 2 * page 4, ligne 29-31,55-58; revendications 1,7,12; figure 6; exemple 8 page 6, ligne 35	1,2,5-7, 9,12-16
X	WO 98 18810 A (UNIV IOWA RES FOUND ;KLINE JOEL N (US); KRIEG ARTHUR M (US)) 7 mai 1998 (1998-05-07) * Séquence 22 * page 10, ligne 16,17 page 10, ligne 25-28 page 18, ligne 28 -page 19, ligne 3 page 22, ligne 8-28 page 65, ligne 10-13	1-4,7,8, 10,13-17

-/-



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

A document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

E document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

L document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

O document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

P document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

G document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

6 décembre 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

05.01.01

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Veronese, A

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demz Internationale No
PCT/FR 00/00676

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 97 44346 A (UNIV MCGILL ; SZYF MOSHE (CA); BIGEY PASCAL (FR)) 27 novembre 1997 (1997-11-27) * Séquences 6, 20, 21, 22, 23, 24 * page 17, ligne 6-23 page 19, ligne 30 -page 20, ligne 22; revendications 4, 10	1, 2, 4-7, 9, 12-16
Y	EP 0 468 520 A (MITSUI TOATSU CHEMICALS) 29 janvier 1992 (1992-01-29) page 3, ligne 17, 36, 41 * Séquences 14, 21, 39, 44, 45 * page 4, ligne 48 page 6, ligne 34-44 page 7, ligne 11-20; revendications 12, 21	1-16
P, X	WO 99 51259 A (UNIV IOWA RES FOUND) 14 octobre 1999 (1999-10-14) * Séquences 33, 36 * page 33, ligne 29, 30; revendications 18-21	1, 2, 4-7, 9, 12-16
Y	WO 95 32987 A (ISIS PHARMACEUTICALS INC ; MONIA BRETT P (US); BOGGS RUSSELL T (US)) 7 décembre 1995 (1995-12-07) page 10, ligne 17-25 page 11, ligne 14, 15 * See Sequence N. 19 * revendication 43	1-16
Y	US 5 734 033 A (REED JOHN) 31 mars 1998 (1998-03-31) * Séquence N. 5 *	1-16
Y	CONNELL, Y. S. ET AL: "Anti-tumor activity of a CpG-containing oligodeoxynucleotide (ODN) in athymic mice." PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL MEETING, (MARCH, 1999) VOL. 40, PP. 299. MEETING INFO.: 90TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH PHILADELPHIA, PENNSYLVANIA, USA APRIL 10-14, 1999 AMERICAN, XP000857678 le document en entier	1-16
Y	SONEHARA K ET AL: "Hexamer palindromic oligonucleotides with 5'-CG-3' motif(s) induce production of interferon." JOURNAL OF INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH, (1996 OCT) 16 (10) 799-803., XP000863569 le document en entier	1-16
-/--		

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem Internationale No

PCT/FR 00/00676

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 98 55495 A (DYNAVAX TECHNOLOGIES CORP ;DINA DINO (US); ROMAN MARK (US); SCHWAR) 10 décembre 1998 (1998-12-10) cité dans la demande page 5, ligne 29; revendications 56,57 * See sequences 1-21 * page 11, ligne 14,15 ----	1-16
Y	WO 95 02051 A (BIOGNOSTIK GES ;SCHLINGENSIEPEN GEORG F (DE); SCHLINGENSIEPEN REIM) 19 janvier 1995 (1995-01-19) * Séquence RN= 163703-03-5 * revendications ----	10,11
Y	US 5 874 416 A (SHEIKHNEJAD GHOLAMREZA) 23 février 1999 (1999-02-23) revendications ----	1-17
Y	WO 96 02555 A (UNIV IOWA RES FOUND) 1 février 1996 (1996-02-01) page 21, ligne 26; revendications ----	1-17
X	WO 94 25588 A (BIOGNOSTIK GES ;BOGDAHN ULRICH (DE); BRYSCH WOLFGANG (DE); SCHLING) 10 novembre 1994 (1994-11-10) * Séquence 77 * revendications ----	1,2,5-7, 9-16
X	WO 99 12027 A (FLYNN JAMES ;REICH NORBERT O (US); UNIV CALIFORNIA (US)) 11 mars 1999 (1999-03-11) * Séquences 11,12 * revendications ----	1,2,4-7, 9,12-16
P,X	WO 99 26634 A (US HEALTH ;CHO CHUNG YOON S (US)) 3 juin 1999 (1999-06-03) * Séquence N.2 * revendications ----	1,2,5-7, 9,12-16
X	WO 95 08350 A (REED JOHN C) 30 mars 1995 (1995-03-30) * Séquence N. 5 * revendications -----	1,2,5-7, 9,12-16

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

D. demande internationale n°
PCT/FR 00/00676

Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} -
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☒ Les revendications n^{os} -
se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
voir feuille supplémentaire SUITE DES RENSEIGNEMENTS PCT/ISA/210
3. ☐ Les revendications n^{os} -
sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

**Après réexamen selon la Règle 40.2(e) PCT,
aucune taxe additionnelle n'est à rembourser.**

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☒ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os} 1-17
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os} -

Remarque quant à la réserve

- ☒ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUEES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-17 (toutes partiellement).

Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: AACGTT-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale. (Séquences: 9-13, 16, 18-23, 25, 28, 29, 31-36, 38-41, 43, 44, 46, 47).

2. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: GACGTT-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

3. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: AGCGTT-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

4. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: GGCATT-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

5. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: AACGTC-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA, CT, ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

6. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: GACGTC-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

7. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

Utilisation d' oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: AGCGTC-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA , CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

8. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d' oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: GGCGTC-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA , CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Les revendications 1,2,4-17 présentes ont trait à une très grande variété de composés/produits. Un fondement au sens de L'Article 6 PCT et/ou un exposé au sens de l'Article 5 PCT ne peut cependant être trouvé que pour un nombre très restreint de ces composés/produits revendiqués. Dans le cas présent, les revendications manquent à un tel point de fondement et l'exposé de l'invention dans la description est si limité qu'une recherche significative couvrant tout le spectre revendiqué est impossible. Par conséquent, la recherche pour la première invention a été limitée aux parties des revendications qui présentent un fondement et un exposé, c'est à dire les parties ayant trait aux oligonucléotides qui comprennent au moins la séquence octamérique: AACGTT-X1X2, dans la quelle la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT les séquences décrites dans les exemples, et les séquences telles que décrites, dans les description.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dep. Internationale No

PCT/FR 00/00676

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0855184 A	29-07-1998	AU 724325 B	14-09-2000
		AU 6293498 A	18-08-1998
		WO 9832462 A	30-07-1998
		EP 0971736 A	19-01-2000
WO 9818810 A	07-05-1998	AU 5242498 A	22-05-1998
		CN 1235609 A	17-11-1999
		EP 0948510 A	13-10-1999
WO 9744346 A	27-11-1997	AU 3355297 A	09-12-1997
		EP 0914324 A	12-05-1999
EP 0468520 A	29-01-1992	JP 4352724 A	07-12-1992
WO 9951259 A	14-10-1999	AU 3467899 A	25-10-1999
WO 9532987 A	07-12-1995	US 5563255 A	08-10-1996
		AU 689267 B	26-03-1998
		AU 2698295 A	21-12-1995
		AU 714142 B	23-12-1999
		AU 6984798 A	27-08-1998
		CA 2191795 A	07-12-1995
		EP 0763052 A	19-03-1997
		FI 964792 A	29-11-1996
		HU 76675 A	28-10-1997
		JP 9507502 T	29-07-1997
		KR 211178 B	15-07-1999
		NO 965080 A	28-11-1996
		US 5998385 A	07-12-1999
		US 6090626 A	18-07-2000
		US 5656612 A	12-08-1997
		US 5744362 A	28-04-1998
		US 5952229 A	14-09-1999
		US 5981731 A	09-11-1999
		US 5919773 A	06-07-1999
US 5734033 A	31-03-1998	US 6040181 A	21-03-2000
		US 5831066 A	03-11-1998
WO 9855495 A	10-12-1998	AU 7811398 A	21-12-1998
		AU 7817898 A	21-12-1998
		EP 1003850 A	31-05-2000
		EP 0986572 A	22-03-2000
		WO 9855609 A	10-12-1998
WO 9502051 A	19-01-1995	AU 7345694 A	06-02-1995
		EP 0708829 A	01-05-1996
		JP 8512300 T	24-12-1996
US 5874416 A	23-02-1999	AU 1390199 A	31-05-1999
		WO 9924560 A	20-05-1999
WO 9602555 A	01-02-1996	AU 713040 B	18-11-1999
		AU 1912795 A	16-02-1996
		CA 2194761 A	01-02-1996
		EP 0772619 A	14-05-1997
		JP 10506265 T	23-06-1998
		US 6008200 A	28-12-1999

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Den. Internationale No

PCT/FR 00/00676

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets	Date de publication
WO 9425588 A	10-11-1994	AU 6794594 A EP 0695354 A EP 1008649 A JP 8509370 T	21-11-1994 07-02-1996 14-06-2000 08-10-1996
WO 9912027 A	11-03-1999	EP 1018003 A	12-07-2000
WO 9926634 A	03-06-1999	US 6060310 A AU 1609899 A EP 1037641 A	09-05-2000 15-06-1999 27-09-2000
WO 9508350 A	30-03-1995	EP 0722342 A US 6040181 A US 5831066 A	24-07-1996 21-03-2000 03-11-1998

11

12

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA COMMUNICATION DE LA DEMANDE INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES

(règle 47.1.c), première phrase, du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

CABINET ORES
6, avenue de Messine
F-75008 Paris
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année) 28 septembre 2000 (28.09.00)		AVIS IMPORTANT	
Référence du dossier du déposant ou du mandataire BLOjp1020/8P			
Demande internationale no PCT/FR00/00676	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17 mars 2000 (17.03.00)	Date de priorité (jour/mois/année) 19 mars 1999 (19.03.99)	
Déposant ASSISTANCE PUBLIQUE-HOPITAUX DE PARIS etc			

1. Il est notifié par la présente qu'à la date indiquée ci-dessus comme date d'expédition de cet avis, le Bureau international a communiqué, comme le prévoit l'article 20, la demande internationale aux offices désignés suivants:
AU,US

Conformément à la règle 47.1.c), troisième phrase, ces offices acceptent le présent avis comme preuve déterminante du fait que la communication de la demande internationale a bien eu lieu à la date d'expédition indiquée plus haut, et le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale à l'office ou aux offices désignés.

2. Les offices désignés suivants ont renoncé à l'exigence selon laquelle cette communication doit être effectuée à cette date:
CA,EP,JP

La communication sera effectuée seulement sur demande de ces offices. De plus, le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale aux offices en question (règle 49.1)a-bis)).

3. Le présent avis est accompagné d'une copie de la demande internationale publiée par le Bureau international le 28 septembre 2000 (28.09.00) sous le numéro WO 00/56342

RAPPEL CONCERNANT LE CHAPITRE II (article 31.2)a) et règle 54.2)

Si le déposant souhaite reporter l'ouverture de la phase nationale jusqu'à 30 mois (ou plus pour ce qui concerne certains offices) à compter de la date de priorité, la demande d'examen préliminaire international doit être présentée à l'administration compétente chargée de l'examen préliminaire international avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Il appartient exclusivement au déposant de veiller au respect du délai de 19 mois.

Il est à noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

RAPPEL CONCERNANT L'OUVERTURE DE LA PHASE NATIONALE (article 22 ou 39.1))

Si le déposant souhaite que la demande internationale procède en phase nationale, il doit, dans le délai de 20 mois ou de 30 mois, ou plus pour ce qui concerne certains offices, accomplir les actes mentionnés dans ces dispositions auprès de chaque office désigné ou élu.

Pour d'autres informations importantes concernant les délais et les actes à accomplir pour l'ouverture de la phase nationale, voir l'annexe du formulaire PCT/IB/301 (Notification de la réception de l'exemplaire original) et le volume II du Guide du déposant du PCT.

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé J. Zahra
no de télécopieur (41-22) 740.14.35	no de téléphone (41-22) 338.83.38



TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

NOTIFICATION RELATIVE
A LA PRESENTATION OU A LA TRANSMISSION
DU DOCUMENT DE PRIORITE

(instruction administrative 411 du PCT)

Destinataire:

CABINET ORES

6, avenue de Messine

F-75008 Paris

FRANCE

CABINET ORES

22. MAI 2000

Date d'expédition (jour/mois/année) 11 mai 2000 (11.05.00)	
Référence du dossier du déposant ou du mandataire BLOjp1020/8P	NOTIFICATION IMPORTANTE
Demande internationale no PCT/FR00/00676	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17 mars 2000 (17.03.00)
Date de publication internationale (jour/mois/année) Pas encore publiée	Date de priorité (jour/mois/année) 19 mars 1999 (19.03.99)
Déposant ASSISTANCE PUBLIQUE-HÔPITAUX DE PARIS etc	

1. La date de réception (sauf lorsque les lettres "NR" figurent dans la colonne de droite) par le Bureau international du ou des documents de priorité correspondant à la ou aux demandes énumérées ci-après est notifiée au déposant. Sauf indication contraire consistant en un astérisque figurant à côté d'une date de réception, ou les lettres "NR", dans la colonne de droite, le document de priorité en question a été présenté ou transmis au Bureau international d'une manière conforme à la règle 17.1.a) ou b).
2. Ce formulaire met à jour et remplace toute notification relative à la présentation ou à la transmission du document de priorité qui a été envoyée précédemment.
3. Un astérisque(*) figurant à côté d'une date de réception dans la colonne de droite signale un document de priorité présenté ou transmis au Bureau international mais de manière non conforme à la règle 17.1.a) ou b). Dans ce cas, l'attention du déposant est appelée sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.
4. Les lettres "NR" figurant dans la colonne de droite signalent un document de priorité que le Bureau international n'a pas reçu ou que le déposant n'a pas demandé à l'office récepteur de préparer et de transmettre au Bureau international, conformément à la règle 17.1.a) ou b), respectivement. Dans ce cas, l'attention du déposant est appelée sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.

<u>Date de priorité</u>	<u>Demande de priorité n°</u>	<u>Pays, office régional ou office récepteur selon le PCT</u>	<u>Date de réception du document de priorité</u>
19 mars 1999 (19.03.99)	99/03433	FR	08 mai 2000 (08.05.00)

Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé:

Marc Salzman

no de téléphone (41-22) 338.83.38



TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE
en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 17 novembre 2000 (17.11.00)	
Demande internationale no PCT/FR00/00676	Référence du dossier du déposant ou du mandataire BLOjp1020/8P
Date du dépôt international (jour/mois/année) 17 mars 2000 (17.03.00)	Date de priorité (jour/mois/année) 19 mars 1999 (19.03.99)
Déposant CARPENTIER, Antoine	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

☒ dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

11 octobre 2000 (11.10.00)

☐ dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection ☒ a été faite

☐ n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé R. Forax no de téléphone: (41-22) 338.83.38
--	--

PCT

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire BL0jp1020/8P	POUR SUITE voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après A DONNER	
Demande internationale n° PCT/FR 00/ 00676	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17/03/2000	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 19/03/1999
Déposant ASSISTANCE PUBLIQUE-HÔPITAUX DE PARIS et al.		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 7 feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Base du rapport

a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.

☐ la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.

b. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :

☒ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.

☒ déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.

☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.

☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.

☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne vas pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.

☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. ☒ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

3. ☒ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le titre,

☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.

☐ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

5. En ce qui concerne l'abrégé,

☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant

☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la Figure n°

☐ suggérée par le déposant.

☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.

☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☐ Aucune des figures n'est à publier.



Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} – se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:

2. ☒ Les revendications n^{os} – se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
voir feuille supplémentaire SUITE DES RENSEIGNEMENTS PCT/ISA/210

3. ☐ Les revendications n^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

Après réexamen selon la Règle 40.2(e) PCT,
aucune taxe additionnelle n'est à rembourser.

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☒ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir
1-17

4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os}

Remarque quant à la réserve

- ☒ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-17 (toutes partiellement).

Utilisation d' oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: AACGTT-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA , CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale. (Séquences: 9-13, 16, 18-23, 25, 28, 29, 31-36, 38-41, 43, 44, 46, 47).

2. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d' oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: GACGTT-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA , CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

3. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d' oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: AGCGTT-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA , CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

4. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d' oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: GGCgTT-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA , CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale

5. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d' oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: AACGTC-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA , CT, ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

6. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d' oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: GACGTC-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA , CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

7. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: AGCGTC-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

8. revendications: 1-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins la séquence octamérique: GGCGTC-X1X2, dans lequel la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Les revendications 1,2,4-17 présentes ont trait à une très grande variété de composés/produits. Un fondement au sens de L'Article 6 PCT et/ou un exposé au sens de l'Article 5 PCT ne peut cependant être trouvé que pour un nombre très restreint de ces composés/produits revendiqués. Dans le cas présent, les revendications manquent à un tel point de fondement et l'exposé de l'invention dans la description est si limité qu'une recherche significative couvrant tout le spectre revendiqué est impossible. Par conséquent, la recherche pour la première invention a été limitée aux parties des revendications qui présentent un fondement et un exposé, c'est à dire les parties ayant trait aux oligonucléotides qui comprennent au moins la séquence octamérique: AACGTT-X1X2, dans la quelle la paire x1x2 est AT, AA, CT ou TT les séquences décrites dans les exemples, et les séquences telles que décrites, dans les description.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT 00/00676

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K31/70 C07H21/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K C07H

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

STRAND, EPO-Internal, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 855 184 A (HEEG KLAUS PROF DR ;LIPFORD GRAYSON B DR (DE); WAGNER HERMANN PROF) 29 juillet 1998 (1998-07-29) * Séquence N. 2 * page 4, ligne 29-31,55-58; revendications 1,7,12; figure 6; exemple 8 page 6, ligne 35	1,2,5-7, 9,12-16
X	WO 98 18810 A (UNIV IOWA RES FOUND ;KLINE JOEL N (US); KRIEG ARTHUR M (US)) 7 mai 1998 (1998-05-07) * Séquence 22 * page 10, ligne 16,17 page 10, ligne 25-28 page 18, ligne 28 -page 19, ligne 3 page 22, ligne 8-28 page 65, ligne 10-13	1-4,7,8, 10,13-17



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

G document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

6 décembre 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

05.01.01

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Veronese, A

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 97 44346 A (UNIV MCGILL ; SZYF MOSHE (CA); BIGEY PASCAL (FR)) 27 novembre 1997 (1997-11-27) * Séquences 6, 20, 21, 22, 23, 24 * page 17, ligne 6-23 page 19, ligne 30 - page 20, ligne 22; revendications 4, 10 ---	1, 2, 4-7, 9, 12-16
Y	EP 0 468 520 A (MITSUI TOATSU CHEMICALS) 29 janvier 1992 (1992-01-29) page 3, ligne 17, 36, 41 * Séquences 14, 21, 39, 44, 45 * page 4, ligne 48 page 6, ligne 34-44 page 7, ligne 11-20; revendications 12, 21 ---	1-16
P, X	WO 99 51259 A (UNIV IOWA RES FOUND) 14 octobre 1999 (1999-10-14) * Séquences 33, 36 * page 33, ligne 29, 30; revendications 18-21 ---	1, 2, 4-7, 9, 12-16
Y	WO 95 32987 A (ISIS PHARMACEUTICALS INC ; MONIA BRETT P (US); BOGGS RUSSELL T (US)) 7 décembre 1995 (1995-12-07) page 10, ligne 17-25 page 11, ligne 14, 15 * See Sequence N. 19 * revendication 43 ---	1-16
Y	US 5 734 033 A (REED JOHN) 31 mars 1998 (1998-03-31) * Séquence N. 5 * ---	1-16
Y	CONNELL, Y. S. ET AL: "Anti-tumor activity of a CpG-containing oligodeoxynucleotide (ODN) in athymic mice." PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL MEETING, (MARCH, 1999) VOL. 40, PP. 299. MEETING INFO.: 90TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH PHILADELPHIA, PENNSYLVANIA, USA APRIL 10-14, 1999 AMERICAN, XP000857678 le document en entier ---	1-16
Y	SONEHARA K ET AL: "Hexamer palindromic oligonucleotides with 5'-CG-3' motif(s) induce production of interferon." JOURNAL OF INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH, (1996 OCT) 16 (10) 799-803., XP000863569 le document en entier ---	1-16

-/--

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT 00/00676

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 98 55495 A (DYNAVAX TECHNOLOGIES CORP ;DINA DINO (US); ROMAN MARK (US); SCHWAR) 10 décembre 1998 (1998-12-10) cité dans la demande page 5, ligne 29; revendications 56,57 * See sequences 1-21 * page 11, ligne 14,15 ---	1-16
Y	WO 95 02051 A (BIOGNOSTIK GES ;SCHLINGENSIEPEN GEORG F (DE); SCHLINGENSIEPEN REIM) 19 janvier 1995 (1995-01-19) * Séquence RN= 163703-03-5 * revendications ---	10,11
Y	US 5 874 416 A (SHEIKHNEJAD GHOLAMREZA) 23 février 1999 (1999-02-23) revendications ---	1-17
Y	WO 96 02555 A (UNIV IOWA RES FOUND) 1 février 1996 (1996-02-01) page 21, ligne 26; revendications ---	1-17
X	WO 94 25588 A (BIOGNOSTIK GES ;BOGDAHN ULRICH (DE); BRYSCH WOLFGANG (DE); SCHLING) 10 novembre 1994 (1994-11-10) * Séquence 77 * revendications ---	1,2,5-7, 9-16
X	WO 99 12027 A (FLYNN JAMES ;REICH NORBERT O (US); UNIV CALIFORNIA (US)) 11 mars 1999 (1999-03-11) * Séquences 11,12 * revendications ---	1,2,4-7, 9,12-16
P,X	WO 99 26634 A (US HEALTH ;CHO CHUNG YOON S (US)) 3 juin 1999 (1999-06-03) * Séquence N.2 * revendications ---	1,2,5-7, 9,12-16
X	WO 95 08350 A (REED JOHN C) 30 mars 1995 (1995-03-30) * Séquence N. 5 * revendications -----	1,2,5-7, 9,12-16

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux memb

amilles de brevets

Demande internationale No

PCT 00/00676

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0855184 A	29-07-1998	AU 724325 B AU 6293498 A WO 9832462 A EP 0971736 A	14-09-2000 18-08-1998 30-07-1998 19-01-2000
WO 9818810 A	07-05-1998	AU 5242498 A CN 1235609 A EP 0948510 A	22-05-1998 17-11-1999 13-10-1999
WO 9744346 A	27-11-1997	AU 3355297 A EP 0914324 A	09-12-1997 12-05-1999
EP 0468520 A	29-01-1992	JP 4352724 A	07-12-1992
WO 9951259 A	14-10-1999	AU 3467899 A	25-10-1999
WO 9532987 A	07-12-1995	US 5563255 A AU 689267 B AU 2698295 A AU 714142 B AU 6984798 A CA 2191795 A EP 0763052 A FI 964792 A HU 76675 A JP 9507502 T KR 211178 B NO 965080 A US 5998385 A US 6090626 A US 5656612 A US 5744362 A US 5952229 A US 5981731 A US 5919773 A	08-10-1996 26-03-1998 21-12-1995 23-12-1999 27-08-1998 07-12-1995 19-03-1997 29-11-1996 28-10-1997 29-07-1997 15-07-1999 28-11-1996 07-12-1999 18-07-2000 12-08-1997 28-04-1998 14-09-1999 09-11-1999 06-07-1999
US 5734033 A	31-03-1998	US 6040181 A US 5831066 A	21-03-2000 03-11-1998
WO 9855495 A	10-12-1998	AU 7811398 A AU 7817898 A EP 1003850 A EP 0986572 A WO 9855609 A	21-12-1998 21-12-1998 31-05-2000 22-03-2000 10-12-1998
WO 9502051 A	19-01-1995	AU 7345694 A EP 0708829 A JP 8512300 T	06-02-1995 01-05-1996 24-12-1996
US 5874416 A	23-02-1999	AU 1390199 A WO 9924560 A	31-05-1999 20-05-1999
WO 9602555 A	01-02-1996	AU 713040 B AU 1912795 A CA 2194761 A EP 0772619 A JP 10506265 T US 6008200 A	18-11-1999 16-02-1996 01-02-1996 14-05-1997 23-06-1998 28-12-1999

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres des familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/00/00676

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9425588 A	10-11-1994	AU 6794594 A EP 0695354 A EP 1008649 A JP 8509370 T	21-11-1994 07-02-1996 14-06-2000 08-10-1996
WO 9912027 A	11-03-1999	EP 1018003 A	12-07-2000
WO 9926634 A	03-06-1999	US 6060310 A AU 1609899 A EP 1037641 A	09-05-2000 15-06-1999 27-09-2000
WO 9508350 A	30-03-1995	EP 0722342 A US 6040181 A US 5831066 A	24-07-1996 21-03-2000 03-11-1998

PCT



REC'D 16 JUL 2001

WIPO

PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire BLOBSF1020/8 PCT	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR00/00676	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17/03/2000	Date de priorité (jour/mois/année) 19/03/1999
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB A61K31/70		
Déposant ASSISTANCE PUBLIQUE-HÔPITAUX DE PARIS et al.		
<p>1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 10 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p><input type="checkbox"/> Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).</p> <p>Ces annexes comprennent feuilles.</p>		
<p>3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Base du rapport</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priorité</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle</p> <p>IV <input checked="" type="checkbox"/> Absence d'unité de l'invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration</p> <p>VI <input checked="" type="checkbox"/> Certains documents cités</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Irrégularités dans la demande internationale</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Observations relatives à la demande internationale</p>		
Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 11/10/2000	Date d'achèvement du présent rapport 12.07.2001	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Greif, G N° de téléphone +49 89 2399 8659 	

RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR00/00676

I. Base du rapport

1. En ce qui concerne les **éléments** de la demande internationale (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17)*):

Description, pages:

1-29 version initiale

Revendications, N°:

1-17 version initiale

Dessins, feuilles:

1/11-11/11 version initiale

Partie de la demande réservée au listage des séquences, pages:

7,11-14,16-17,19-20, 22-29, telles que initialement déposées

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☒ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/00676

- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
☐ des revendications, n°s :
☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

1. La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

☐ l'ensemble de la demande internationale.

☒ les revendications n°s 1-17 (all in parts). *see separate sheet*

parce que :

☐ la demande internationale, ou les revendications n°s en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue d'effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :

☐ la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications n°s en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :

☐ les revendications, ou les revendications n°s en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.

☒ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications n°s 1-17 (all in parts) en question.

2. Le listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés n'est pas conforme à la norme prévue dans

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/00676

l'annexe C des instructions administratives, de sorte qu'il n'est pas possible d'effectuer un examen préliminaire international significatif:

- ☐ le listage présenté par écrit n'a pas été fourni ou n'est pas conforme à la norme.
- ☐ le listage sous forme déchiffrable par ordinateur n'a pas été fourni ou n'est pas conforme à la norme.

IV. Absence d'unité de l'invention

1. En réponse à l'invitation à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles, le déposant a
 - ☐ limité les revendications.
 - ☐ payé des taxes additionnelles.
 - ☐ payé des taxes additionnelles sous réserve.
 - ☐ ni limité les revendications ni payé des taxes additionnelles.
2. ☒ L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime qu'il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité d'invention et décide, conformément à la règle 68.1, de ne pas inviter le déposant à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles.
3. L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime que, aux termes des règles 13.1, 13.2 et 13.3,
 - ☐ il est satisfait à l'exigence d'unité de l'invention.
 - ☒ il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité de l'invention, et ce pour les raisons suivantes :
voir feuille séparée
4. En conséquence, les parties suivantes de la demande internationale ont fait l'objet d'un examen préliminaire international lors de la formulation du présent rapport :
 - ☐ toutes les parties de la demande.
 - ☒ les parties relatives aux revendications n°s 1-17 (all in parts, relating to Inventions I and VI).

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui :	Revendications
	Non :	Revendications 1-17 (all in parts)
Activité inventive	Oui :	Revendications
	Non :	Revendications 1-17 (all in parts)
Possibilité d'application industrielle	Oui :	Revendications 1-17 (all in parts)
	Non :	Revendications

2. Citations et explications
voir feuille séparée

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :
voir feuille séparée

Concernant le point III

Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

1. Un rapport de recherche incomplet a été établi pour les revendications 1, 2, 4-17 parce qu'ils ont trait à une grande variété de composés (voir PCT/ISA/210 et Cadre I 2).
2. Seulement les parties des revendications 1-17 correspondant aux **inventions I et VI** pour lesquelles un rapport de recherche a été établi, sont considérés pour le présent rapport d'examen préliminaire international (Voir point IV et rapport de recherche, PCT/ISA/210).

Concernant le point IV

Absence d'unité de l'invention

L'objection soulevée par l'administration chargée de la recherche quant à l'absence d'unité (voir rapport de recherche) est maintenu.

Concernant le point V

Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

A. INVENTION I (revendications 1-17, tous partiellement)

1. L'opinion suivante quant à la nouveauté, activité inventive ou application industrielle est formulé uniquement pour l'objet concernant les (parties des) revendications pour lesquelles un rapport de recherche a été établi (Règle 66.1(e)PCT), basée sur les documents cités dans le rapport de recherche.
2. Il est fait référence aux documents suivants:

- D1:** EP-A-0855 184
D2: WO-A-98 18810
D3: WO-A-97 44346
D4: WO-A-94 25588
D5: WO-A-99 12027
D6: EP-A-0468 520
D7: US 5,734,033
D8: CONNELL, Y. S. ET AL: 'Anti-tumor activity of a CpG-containing oligodeoxynucleotide (ODN) in athymic mice.' PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL MEETING, (MARCH, 1999) VOL. 40, PP. 299.

3. Nouveauté

Document **D1** divulgue des compositions comprenant des oligonucléotide ayant 100, préférablement 5-40 ou 15-25 nucléotides en simple ou double brin, comprenant le motif octamérique AACGTTCT, stabilisé par des groupes phosphorodithioates, pour le traitement des tumeurs (p.3, lignes 33-35, 52-54 et 58; p. 4, lignes 29-31 et 55-59; p.5, lignes 20-21; p.6, ligne 36; exemple 8; séquence 2, revendications 1, 7, et 12. **D1** détruit donc la nouveauté des revendications 1, 2, 5-7, 9, 12, et 15-17.

D2 divulgue des compositions comprenant des oligonucleotides ayant entre 8 et 30 bases, comprenant le motif octamérique AACGTTCT, stabilisés par des groupes phosphorodithioates et contenant une cytosine modifié, utiles pour le traitement des cancers comme les leucémies (p. 10, lignes 16-17 et 25-28; p. 18, ligne 28-p. 19, ligne 3 et lignes 5-6; p. 22, lignes 8-28; séquence 22), et détruit donc la nouveauté des revendications 1-4, 7-8, 11, et 15-17.

D3 décrit des compositions comprenant des oligonucleotides comprenant des motifs octamériques comme AACGTTTT, stabilisés par des phosphorothioates, pour le traitement des tumeurs (p. 17, lignes 6-23, p. 19, ligne 30 - p. 20, ligne 22, revendications 4, 10, séquences 20-24). L'objet des revendications 1, 2, 4-7, 9, et 12-16 n'est donc pas nouveau vis-à-vis **D3**.

D4 décrit des compositions pharmaceutiques pour le traitement des cancers, comme les neurofibromas ou les glioblastomas, comprenant des oligonucléotides

stabilisés par des groupes phosphorodithioates, ayant le motif GACGTCAA (séquence 77, revendications). **D4** détruit donc la nouveauté des revendications 1, 5-7, 9-11 et 16.

D5 divulgue des compositions pharmaceutiques comprenant des oligonucléotides pour le traitement des cancers, ayant le motif GACGTCAA ou GACGTCAT ainsi que des cytosines modifiées (revendications, séquences 11, 12). **D5** anticipe l'objet des revendications 1, 4-7, 9, et 16.

4. Dans le cas où le demandeur arrive à surmonter les objections sur la nouveauté faites ci-dessus, les documents suivants devraient être considérés en ce qui concerne l'activité inventive:
Document **D6** décrit des oligonucléotides contenant le palindrome AACGTT (séquence 39), pour le traitement des cancers (p. 4, ligne 48, p. 6, lignes 34-44, p. 7, lignes 11-20, revendications 12, 21).
D7 décrit des oligonucléotides antisense ayant une séquence proche au motif octamérique revendiqué, pour le traitement des cancers (séquence 5, abrégé)
D8 décrit le traitement des glioblastomes avec des oligonucléotides stabilisés par des phosphorothioates, contenant CpG (abrégé).
5. Application industrielle
Il n'existe pas de critère unifié dans les Etats parties au PCT pour déterminer si les revendications 1-17 sont susceptibles d'application industrielle. La brevetabilité peut aussi dépendre de la manière dont les revendications ont été formulées. Ainsi, l'Office européen des brevets ne considère pas comme susceptible d'application industrielle l'objet de revendications d'utilisation d'un composé à des fins médicales. Par contre, peuvent être acceptées des revendications relatives à un composé connu, pour une première utilisation à des fins médicales ainsi que des revendications relatives à l'utilisation d'un tel composé dans la fabrication d'un médicament en vue d'un nouveau traitement médical.

B. INVENTION VI (revendications 1-17, tous partielle)

1. L'opinion suivante quant à la nouveauté, activité inventive ou application industrielle est formulé uniquement pour l'objet concernant les (parties des) revendications pour lesquelles un rapport de recherche a été établi (Règle 66.1(e)PCT), basée sur les documents cités dans le rapport de recherche.
2. Il est fait référence aux documents suivants:
 - D1:** EP-A- 0855 184
 - D2:** WO-A-98 18810
 - D3:** WO-A- 97 44346
 - D4:** WO-A-94 25588
 - D5:** WO-A-99 12027
 - D6:** EP-A-0468 520
 - D7:** US 5,734,033
 - D8:** CONNELL, Y. S. ET AL: 'Anti-tumor activity of a CpG-containing oligodeoxynucleotide (ODN) in athymic mice.' PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL MEETING, (MARCH, 1999) VOL. 40, PP. 299.
3. Nouveauté
 - Document **D1** (voir raisons et citations sous A) détruit la nouveauté des revendications 1, 5-7, 9, 12, et 15-17.
 - D2** (voir explications et citations sous A) détruit donc la nouveauté des revendications 1, 3-4, 7-8, 11, et 15-17.
 - D3** (voir explications et citations sous A) anticipe l'objet des revendications 1, 4-7, 9, et 12-16.
 - D4** (voir explications et citations sous A) détruit la nouveauté des revendications 1, 2, 5-7, 9-11 et 16.
 - D5** (voir explications et citations sous A) détruit la nouveauté des revendications 1, 2, 4-7, 9, et 16.
4. Activité inventive
 - Voir A. point 4, ci-dessus

RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL - FEUILLE SEPARÉE

Demande internationale n° PCT/FR00/00676

5. Application industrielle
Voir A. point 5, ci-dessus

Concernant le point VI
Certains documents cités

Certains documents publiés (règle 70.10)

Demande n° Brevet n°	Date de publication (jour/mois/année)	Date de dépôt (jour/mois/année)	Date de priorité (valablement revendiquée) (jour/mois/année)
WO 99/26634	03.06.1999	23.11.1998	24.11.1997
WO 99/51259	14.10.1999	02.04.1999	03.04.1997

Concernant le point VIII
Observations relatives à la demande internationale

Il semble avoir une contradiction entre description p. 11, ligne 6, qui décrit SEQ.
ID. N° 2 comme : TGA CTGTGAAGTTCGAGATGA
et p. 11, ligne 16, qui décrit SEQ. ID. N° 2 comme :
TGA CTGTGAACGTTCGAGATGA
(voir aussi p. 14, ligne 19).

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 31/70	A2	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/56342 (43) Date de publication internationale: 28 septembre 2000 (28.09.00)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR00/00676 (22) Date de dépôt international: 17 mars 2000 (17.03.00) (30) Données relatives à la priorité: 99/03433 19 mars 1999 (19.03.99) FR (71) Déposants (pour tous les Etats désignés sauf US): ASSISTANCE PUBLIQUE-HOPITAUX DE PARIS [FR/FR]; 3, avenue Victoria, F-75004 Paris (FR). INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE [FR/FR]; 101, rue de Tolbiac, F-75654 Paris Cedex 13 (FR). (72) Inventeur; et (75) Inventeur/Déposant (US seulement): CARPENTIER, Antoine [FR/FR]; 28, avenue Bosquet, F-75007 Paris (FR). (74) Mandataire: CABINET ORES; 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR).		(81) Etats désignés: AU, CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.</i>
(54) Title: USE OF STABILISED OLIGONUCLEOTIDES FOR PREPARING A MEDICINE WITH ANTITUMOUR ACTIVITY (54) Titre: UTILISATION D'OLIGONUCLEOTIDES STABILISES POUR LA PREPARATION D'UN MEDICAMENT A ACTION ANTITUMORALE (57) Abstract <p>The invention concerns the use of stabilised oligonucleotides comprising at least an octamer motif of the type: 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-X₁X₂-3' wherein the pair X₁-X₂ is AT, AA, CT or TT, for preparing a medicine with antitumour activity.</p> (57) Abrégé <p>Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins un motif octamérique du type: 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-X₁X₂-3', dans lequel la paire X₁-X₂ est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce			TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	ML	Mali	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MN	Mongolie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MR	Mauritanie	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MW	Malawi	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	MX	Mexique	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Pays-Bas	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NO	Norvège	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	NZ	Nouvelle-Zélande		
CM	Cameroun			PL	Pologne		
CN	Chine	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CZ	République tchèque	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
DE	Allemagne	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DK	Danemark	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
EE	Estonie	LR	Libéria	SG	Singapour		

UTILISATION D'OLIGONUCLÉOTIDES STABILISÉS POUR LA
PRÉPARATION D'UN MÉDICAMENT A ACTION ANTITUMORALE.

La présente invention se rapporte à l'utilisation d'oligonucléotides stabilisés pour la préparation
5 d'un médicament à action antitumorale.

Le traitement efficace des cancers reste l'un des défis majeurs de la médecine d'aujourd'hui.

L'efficacité des thérapeutiques conventionnelles chirurgicales ou à visée cytolytique (chimiothérapie et radiothérapie) reste très limitée dans de nombreux
10 cancers.

Pour les astrocytomes par exemple, dont le traitement repose principalement sur l'exérèse chirurgicale et l'irradiation cérébrale locale, la médiane de survie est seulement de 4 à 6 mois après exérèse chirurgicale
15 et de 8 à 10 mois avec l'association chirurgie et radiothérapie. Une chimiothérapie complémentaire allonge la survie chez les patients de moins de 60 ans, mais de façon très modeste, de l'ordre de 3 mois. Sous ce triple
20 traitement, la médiane de survie reste inférieure à deux ans pour le grade histologique III (astrocytome anaplasique) et inférieure à 1 an pour le grade IV (glioblastome). La mortalité pour ces deux groupes est de 100% (Daumas-Duport C. et al. (1988), Cancer 62(10) pp 2152-65).

25 La stimulation du système immunitaire dans le traitement des cancers est une idée ancienne et de très nombreux produits ont été testés, comme par exemple les extraits bactériens (Jaeckle K. A. et al. (1990), J. Clin. Oncol. 8(8) pp 1408-18), l'ADN bactérien, notamment celui
30 de *Mycobacterium bovis* (MY-1) (Tokunaga T. et al. (1984), JNCI 72 pp 955-62). MY-1 est cependant inefficace pour

augmenter la survie dans un modèle de gliome chez la souris (Nakaichi M. et al. (1995), *J. Vet. Med. Sci.* 57(3) pp 583-5). L'IL2 (Herrlinger U. et al. (1996), *J. Neurooncol.* 27(3) pp 193-203) et plus récemment l'IL12 (Kishima H. et al. (1998), *Br. J. Cancer* 78(4) pp 446-53 ; Jean W. C. et al. (1998), *Neurosurgery* 42(4) pp 850-6) ont également été étudiés.

Malheureusement, la plupart de ces produits ont une efficacité limitée ou une toxicité inacceptable et à ce jour, seul le BCG de *Mycobacterium bovis* a abouti à des applications cliniques, mais seulement dans des indications très limitées de cancers de la vessie (Soloway M. S. et al. (1988), *Urol. Clin. North Am.* 15 pp 661-9).

Les oligonucléotides sont des polymères, formés par la combinaison de bases puriques ou pyrimidiques et de sucres, notamment des ribonucléotides ou des désoxyribonucléotides. A l'état naturel, les liaisons sont des liaisons phosphoesters sensibles aux nucléases de l'organisme humain. Ainsi les oligonucléotides présentent une demi-vie très courte (de l'ordre de la minute) quand ils sont injectés chez l'homme, ce qui limite leurs effets biologiques. Aussi, plusieurs études ont cherché à stabiliser les oligonucléotides en modifiant leur structure chimique pour les rendre résistants aux nucléases. Plusieurs types d'oligonucléotides stabilisés ont ainsi été créés comme, entre autres, les phosphorothioates ou les méthylphosphonates, (Crooke R. M. (1991), *Anti-Cancer Drug Design* 6 pp 609-46). Les plus fréquemment utilisés sont les oligonucléotides phosphorothioates.

Certains oligodésoxynucléotides et notamment certains oligodésoxynucléotides synthétiques possèdent

parfois des effets biologiques propres, en dehors de leurs propriétés antisens classiques.

Ainsi certains oligodésoxynucléotides, indépendamment de toute séquence antisens connue, stimulent, *in vitro* et *in vivo*, la prolifération des lymphocytes B, l'activité des cellules NK et induisent la sécrétion par ces cellules d'IFN α , d'IFN β , d'IFN γ , d'IL6, d'IL12 ou de TNF α (Yamamoto S. et al. (1992), *J. Immunol.* 148(12) pp 4072-6 ; Yamamoto T. et al. (1994), *Microbiol. Immunol.* 38(10), pp 831-6 ; Yi A. K. et al. (1996), *J. Immunol.* 157(12) pp 5394-402 ; Ballas Z. K. et al. (1996), *J. Immunol.* 157(5) pp 1840-5 ; Cowdery J. S. et al. (1996), *J. Immunol.* 156(12) pp 4570-5 ; Stacey K. J. et al. (1996), *J. Immunol.* 157(5) pp 2116-22). L'ensemble de ces cytokines oriente vers une réponse immunitaire de type Th1 (Chu R.S. et al. (1997), *J. Exp. Med.* 186(10) pp 1623-31).

Des Auteurs ont montré que les propriétés immunostimulantes de ces oligodésoxynucléotides sont en grande partie dépendantes de motifs CG non méthylés (dinucléotides CpG non méthylés) qui sont sous-représentés dans l'ADN de mammifères (Kuramoto E. et al. (1992), *Jpn. J. Cancer Res.*, 83 pp 1128-31).

Si les Auteurs s'accordent sur le fait que la séquence CG non méthylée est indispensable et que les deux nucléotides adjacents au motif CG, sont également cruciaux pour l'activité immunostimulante, les données publiées sur la nature des séquences adjacentes sont contradictoires.

En effet, Krieg A. M. et al. ((1996), *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 6(2) pp 133-9 revendiquent un motif hexamérique du type 5'purine purine CG pyrimidine pyrimidine 3', alors que la demande EP 468 520 revendique un motif hexamérique palindromique. La Demande

internationale WO 9855495 montre, que tous les hexamères tels que définis par Krieg et al. 1996 (précité) ne sont pas immunostimulants et qu'il convient plutôt de définir des octamères, de séquence 5' purine purine CG pyrimidine pyrimidine CC-3' ou de séquence 5'-purine purine CG pyrimidine pyrimidine CG-3', pour avoir une activité immunostimulante.

D'autres oligodésoxynucléotides immunostimulants, qui ne sont pas définis comme des oligonucléotides possédant un motif CG non méthylé ont été décrits dans la Demande EP 855 184 : ils comprennent la séquence de fixation de facteurs de transcription eucaryote tels que NFκB ou la famille AP-1. Parmi ces oligonucléotides, certains comprennent néanmoins le motif CG non méthylé.

L'utilisation des propriétés immunostimulantes des oligodésoxynucléotides comprenant un motif de type CG non méthylé, fait l'objet de recherches dans des domaines très variés :

(1) dans le domaine de la vaccination ils sont utilisés, en association avec l'antigène, comme adjuvant pour stimuler spécifiquement une réponse immunitaire de type Th1 (Davis H. L. et al. (1998), *The Journal of Immunology* 160(2) pp 870-6 ; demande EP 855 184 ; Demande internationale WO 9818810 au nom de The University of Iowa Research Foundation dont A. M. Krieg est l'un des inventeurs; Demande internationale WO 9855495),

(2) dans le domaine de l'allergie, ils sont utilisés seuls pour moduler la réponse immunitaire (Demandes internationales WO 9818810 et WO 9855495) et

(3) dans le domaine du cancer, ils sont utilisés :

- soit en association avec un antigène tumoral, comme adjuvant d'un vaccin antitumoral (demande EP 855 184; Weiner G. J. et al. (1996), *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94**, pp 10833-7 ; Wooldridge J. E. et al. (1997) *Blood* **89**(8) pp 2994-8),

- soit seuls comme antitumoraux (Connell et al. (1999), *Proceedings of the American association for Cancer Research* **40** pp 299 ; demande EP 468 520; Carpentier A. F. et al. (1999), *Cancer Research* **59**, pp 5429-5432.

10 Dans ce dernier cas, l'activité antitumorale de quelques séquences seulement, parmi celles décrites, a été effectivement démontrée :

- Weiner G. J. et al. et Wooldridge J.E. et al. (déjà cités) qui utilisent un oligonucléotide comprenant un motif CG non méthylé de séquence 5'-TCTCCC AGCGTGCGCCAT-3' montrent que cet oligonucléotide ne possède aucun effet antitumoral lorsqu'il est utilisé seul,

- Carpentier et al., Tokunaga et al. et Connell et al. (précités) qui utilisent respectivement un oligonucléotide phosphorothioate du type octamérique (5'TGACTGTGAACGTTCCGAGATGA3'), un oligonucléotide hexamérique palindromique non stabilisé (5' ACCGAT GACGTCGCCGGTGACGGCACCACGACGACGGCCACGTGCT 3') et un oligonucléotide phosphorothioate hexamérique du type 5' purine purine CG pyrimidine pyrimidine 3', montrent que lesdits oligonucléotides possèdent une activité antitumorale.

Il ressort de l'Art antérieur qu'en dehors du motif CG non méthylé, la nature exacte des séquences actives de ces oligodésoxynucléotides immunostimulants, pour l'obtention d'une activité antitumorale, n'est pas clairement définie ; en particulier, les données publiées sur la nature des séquences adjacentes au motif CG non méthylé (2

bases en 5' et 2 bases en 3' (motifs hexamériques) ou 4 bases en 3' (motif octamérique)) sont contradictoires.

Des études récentes rapportées par Hartmann G. et al. ((2000), *The Journal of Immunology* 164 pp 1617-24) donnent des explications sur la difficulté de définir la séquence de tels oligonucléotides.

En effet, les Auteurs montrent que, selon la nature de leur séquence, les oligodésoxynucléotides immunostimulants ont des effets différentiels sur l'activation NK, la prolifération des lymphocytes B, la sécrétion d'IL12, d'IL6 et d'INF γ .

Ces données indiquent que tous les oligodésoxynucléotides immunostimulants ne sont pas équivalents et efficaces pour toutes les utilisations telles que définies ci-dessus puisqu'il faut stimuler des compartiments du système immunitaire différents afin d'obtenir l'activité désirée : adjuvante, antiallergique ou antitumorale.

De plus, les mécanismes immunitaires de rejet tumoral sont mal connus et les données de stimulation des compartiments du système immunitaire, *in vitro*, telles que définies ci-dessus ne permettent pas de prévoir à l'avance l'efficacité antitumorale d'un oligonucléotide donné et il importe donc de tester leur activité antitumorale *in vivo*.

En outre, la toxicité d'oligonudésoxy-nucléotides contenant un motif de type CG a été rapportée lors de leur utilisation par voie systémique (IV et IP) et est aussi à prendre en compte pour des applications thérapeutiques (Demande EP 855 184).

En conséquence, les oligonucléotides immunostimulants comprenant un motif CG de l'Art antérieur (motif hexamérique palindromique, motif 5' purine purine CG pyrimidine pyrimidine 3' ou motif octamérique) qui présentent

des activités antitumorales variables et aléatoires et sont toxiques, ne permettent pas de définir un ensemble de séquences immunostimulantes non toxiques, efficaces, pour une utilisation antitumorale.

5 Or, les Inventeurs ont montré, de manière surprenante, que certaines paires de bases en 3' du motif 5' purine purine CG pyrimidine pyrimidine 3' participent, de manière cruciale, à une activité antitumorale optimale.

10 En conséquence, les Inventeurs se sont donnés pour but de pourvoir à un ensemble de séquences d'oligonucléotides immunostimulants qui répondent mieux aux besoins de la pratique en ce qu'ils :

- possèdent une activité antitumorale optimale,

15

- ne sont pas toxiques et
- sont adaptés à une utilisation antitumorale chez l'homme ou l'animal.

Ainsi la présente invention a pour objet, l'utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins un motif octamérique du type :
20 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine- X_1X_2 -3', dans lequel la paire X_1X_2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.

Au sens de la présente invention, on entend
25 par oligonucléotide, un oligodésoxynucléotide.

Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, les oligonucléotides stabilisés comprennent au moins un motif octamérique sélectionné dans le groupe constitué par : AACGTT- X_1X_2 , GACGTT- X_1X_2 , AGCGTT- X_1X_2 ,
30 GGCGTT- X_1X_2 , AACGTC- X_1X_2 , GACGTC- X_1X_2 , AGCGTC- X_1X_2 et GGCGTC- X_1X_2 , dans lequel X_1X_2 est AT, AA, CT ou TT.

Selon une disposition avantageuse de ce mode de réalisation préféré de l'invention, les oligonucléotides stabilisés comprennent de préférence au moins l'un des motifs octamériques suivants : AACGTT- X_1X_2 et GACGTC- X_1X_2 .

Dans un autre mode de réalisation préféré de l'invention, l'une au moins des bases du motif octamérique décrit ci-dessus peut être modifiée, notamment l'une au moins des cytosines peut être remplacée par une 5-bromocytosine.

Dans un autre mode de réalisation préféré de l'invention, l'oligonucléotide stabilisé est sélectionné dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID NO :8 à 48

Conformément à l'invention, les oligonucléotides stabilisés sont sélectionnés notamment dans le groupe constitué par les oligonucléotides phosphorothioates, les oligonucléotides phosphorodithioates, les oligonucléotides mixtes phosphodiester-phosphorothioates, les oligonucléotides méthylphosphonates ou les oligonucléotides dont au moins une extrémité a été stabilisée (Crooke R. M. (1991), *AntiCancer Drug Design*, 6 pp 609-46). De préférence, les oligonucléotides stabilisés utilisés selon la présente invention sont des phosphorothioates.

Conformément à l'invention, les oligonucléotides stabilisés peuvent être utilisés sous forme de simple brin ou de double brin.

De préférence, les oligonucléotides stabilisés peuvent avoir n'importe quelle longueur supérieure à 8 bases ou 8 paires de bases, de préférence plus de 20 ba-

ses ou de 20 paires de bases. De manière préférée lesdits oligonucléotides comprennent entre 20 et 100 nucléotides.

Conformément à la présente invention, les oligonucléotides peuvent comprendre plusieurs motifs octamériques tels que définis ci-dessus adjacents ou non ; ils peuvent comprendre également d'autres séquences biologiquement actives, comme des séquences antisens. Les séquences octamériques peuvent elles-mêmes être incluses dans des séquences antisens.

La présente invention a également pour objet l'utilisation des oligonucléotides stabilisés tels que définis ci-dessus, pour la préparation de médicaments destinés au traitement des cancers chez l'homme, quels que soient leur nature et leur degré d'anaplasie, en particulier les cancers des systèmes nerveux central et périphérique, notamment les astrocytomes, les glioblastomes, les médulloblastomes, les neuroblastomes, les mélanomes et les carcinomes.

Les oligonucléotides stabilisés, peuvent avantageusement être couplés par des liaisons covalentes, ioniques ou faibles à une molécule susceptible d'augmenter l'affinité tumorale, comme par exemple un anticorps spécifique du tissu tumoral.

Les oligonucléotides stabilisés sont utilisés préférentiellement par voie intra-tumorale, mais ils peuvent être administrés également par toutes autres voies, éventuellement par voies multiples, notamment par voies intraveineuse, intrapéritonéale, topique, transdermique, sous-cutanée, intra-artérielle, pulmonaire, naso-pharyngée ou orale, en solution, en suspension aqueuse ou huileuse, en poudre ou sous toute forme pharmaceutiquement acceptable.

Ils peuvent être administrés en une ou plusieurs fois ou en libération continue, notamment au moyen de micropompes osmotiques ou associés à tout moyen physique ou chimique, notamment à des agents encapsulants
5 comme les systèmes de dispersion colloïdaux et les polymères, afin d'avoir une dose thérapeutiquement efficace au site tumoral.

Les doses efficaces seront déterminées en fonction de l'âge, de l'état de santé, du poids du patient et du type de cancer à traiter. Typiquement, les
10 doses efficaces chez l'homme sont telles que, dans le cas d'une injection intra-tumorale, l'on obtienne une dose d'oligonucléotide de 10 à 1000 µg/g de tumeur, au moins dans une partie de la tumeur.

15 Conformément à l'invention, l'utilisation des oligonucléotides peut être combinée avec d'autres thérapies, notamment la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'immunothérapie et des thérapies différenciantes.

20 Également conformément à l'invention, lesdits oligonucléotides sont associés avec des cellules du système immunitaire, telles que des macrophages, des lymphocytes ou des cellules présentatrices d'antigène, des adjuvants de l'immunité, des cytokines, des anticorps
25 anti-tumoraux, des extraits tumoraux, des antigènes tumoraux ou des cellules tumorales normales, irradiées ou génétiquement modifiées.

Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère aux
30 exemples de réalisation de l'utilisation, objet de la

présente invention, ainsi qu'aux dessins annexés, dans lesquels:

- la figure 1 illustre les résultats obtenus après une injection intra-tumorale de l'oligodésoxynucléotide phosphorothioate PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAAGTTCGAGATGA-3'), dans le modèle du gliome CNS1 dans le cerveau de rat Lewis (Kruse C. A. et al. (1994), *J. Neurooncol.* 22 pp 191-200), sur le temps de survie des animaux témoins (-) ; PT1 50µg injecté à J1 (-.-.-.), PT1 50µg injecté à J5 (....) et PT1 50µg injecté à J9 (---), après l'injection des cellules tumorales. L'évaluation statistique des résultats est réalisée par le test de Kaplan-Meier.

- la figure 2 illustre l'effet d'une injection intra-tumorale à J1 de l'oligodésoxynucléotide phosphorothioate PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3'), à différentes doses, dans le modèle du gliome CNS1 du rat Lewis, sur le temps de survie des animaux témoins (-) ; PT1 50µg (----), PT1 10µg (-.-.-.) et PT1 1 µg (....).

- la figure 3 illustre l'effet d'une injection intra-tumorale de l'oligodésoxynucléotide phosphorothioate PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3') ou de l'oligodésoxynucléotide phosphorothioate IMM (SEQ ID N° 1 5'-TGACTGTGAAGGTTAGAGATGA-3'), dans un modèle de tumeurs gliales sous-cutanées. A J2 après l'injection des cellules tumorales, les animaux reçoivent, par voie sous cutanée, au niveau du site tumoral, du chlorure de sodium (témoin -♦-), ou 50 µg de PT1 (-Δ-) ou 100 µg de PT1 (-●-) ou 50 µg d'IMM (-□-). Le volume de la tumeur est évalué tous les deux jours. Les résultats sont exprimés en moyenne ± s.e.m. (Test Anova).

- la figure 4 illustre l'effet d'une injection intra-tumorale de l'oligodésoxynucléotide phosphorothioate PT1 ou de l'oligodésoxynucléotide phosphodiester PE1 ayant tous les deux la SEQ ID N° 2 (5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3'), dans un modèle de tumeurs gliales sous-cutanées. A J2 après l'injection des cellules tumorales, les animaux reçoivent par voie sous cutanée, au niveau du site tumoral, du chlorure de sodium (témoin -♦-), ou 100 µg de PE1 (-□-) ou 100 µg de PT1 (-△-). Le volume de la tumeur est évalué tous les deux jours. Les résultats sont exprimés en moyenne ± s.e.m. (Test Anova).

- la figure 5 illustre l'effet d'une injection intra-tumorale de l'oligodésoxynucléotide phosphorothioate PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3'), ou de l'oligodésoxynucléotide phosphorothioate IMM (SEQ ID N° 1 5'-TGACTGTGAAGGTTAGAGATGA-3'), dans le modèle du neuroblastome neuro2a chez la souris A/J (Sigal R. K. et al. (1991), *J. Pediatr. Surg.* 26 pp 389-96). A J2 après l'injection de ces cellules tumorales, les animaux reçoivent, par voie sous cutanée au niveau du site tumoral, du chlorure de sodium (témoin -♦-), 50 µg de PT1 (-■-), 100 µg de PT1 (-▲-) ou 50 µg d'IMM (-□-). Le volume de la tumeur est évalué tous les quatre jours. Les résultats sont exprimés en moyenne ± s.e.m. (Test Anova).

- la figure 6 illustre l'effet d'une injection par voie sous-cutanée ou par voie intrapéritonéale de l'oligodésoxynucléotide phosphorothioate PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3'), à la dose de 50 µg dans le modèle du neuroblastome neuro2a chez la souris A/J (Sigal R.K. et al. (1991), *J. Pediatr. Surg.* 26 pp 389-96). A J2

après l'injection de ces cellules tumorales, les animaux (n=6 par groupe) reçoivent 100 µl de chlorure de sodium (groupe témoin -♦-) ou 50 µg de PT1 injectés par voie i.p. (-■-) ou par voie s.c. à distance de la tumeur
5 (-▲-) dans 100 µl de chlorure de sodium.

- la figure 7 illustre l'effet de la stabilisation d'un oligonucléotide (SEQ ID NO:9 5'-TGACTGTGAACGTTATAGATGA-3') par une liaison du type phosphorothioate (PT), phosphodiester (PDE), méthylphosphonate (MP) ; phosphodiester stabilisé en 3' par une
10 base didésoxycytosine (3') ou mixte : phosphodiester avec les 3 premières liaisons en 5' et les trois dernières liaisons en 3' de type phosphorothioates (mixte), sur l'activité antitumorale dans un modèle de tumeurs gliales
15 sous-cutanées. A J2 après l'injection des cellules tumorales, les groupes d'animaux reçoivent par voie sous cutanée, au niveau du site tumoral, du chlorure de sodium (témoin NaCl, n= 9) ou 50 µg des oligonucléotides PT (n= 9) , PDE (n= 8), MP (n= 9), 3' (n= 7) et mixte (n= 9). Le
20 volume de la tumeur est évalué à J10. Les résultats sont exprimés en moyenne ± s.e.m..

- les figures 8 à 11 illustrent l'effet des séquences 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-X₁X₂-3' sur la modulation de l'activité antitumorale dans un
25 modèle de tumeurs gliales sous-cutanées. A J2 après l'injection des cellules tumorales, les groupes d'animaux (n= 6) reçoivent par voie sous cutanée, au niveau du site tumoral, du chlorure de sodium (témoin NaCl) ou 50 µg des oligonucléotides (SEQ ID NO :2 à 13). Le volume de la tumeur est évalué à J8 (figure 8 à 10) ou à J10 (figure
30 11). Les résultats sont exprimés en moyenne ± s.e.m. :

- la figure 8 illustre l'effet des séquences des oligonucléotides sur l'efficacité antitumorale,

- la figure 9 illustre l'effet de la séquence du motif hexamérique 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-3' et des séquences adjacentes sur l'efficacité antitumorale des oligonucléotides,

- la figure 10 illustre l'effet des 2 bases (X_1X_2) adjacentes à la séquence 3' du motif hexamérique 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-3' sur l'efficacité antitumorale des oligonucléotides,

- la figure 11 illustre l'effet de différentes séquences X_1X_2 sur l'efficacité antitumorale des oligonucléotides

Les exemples qui suivent illustrent l'invention, sans toutefois la limiter à ces modes de réalisation particuliers.

Exemple 1 : Effet d'une injection intra-tumorale ou d'une injection intrapéritonéale de PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3') sur la survie des animaux dans le modèle du gliome CNS1 dans le cerveau de rat Lewis

1. Mode opératoire :

Des cellules de gliome CNS1 cultivées *in vitro* sont greffées dans le cerveau de rat Lewis sains, à raison de 10^5 cellules dans le cortex pariétal droit de rats (Kruse C. A. et al. (1994), J. Neurooncol, 22 pp 191-200).

a) injection intra-tumorale :

50 μ g de PT1 dans 7 μ l de chlorure de sodium sont injectés au niveau du site tumoral à 1, 5 ou 9 jours après la greffe (groupe traité à J1, n=6 ; groupe traité

15

à J5, n=8 ; groupe traité à J9, n=4) ; un groupe témoin (n=14) reçoit du chlorure de sodium.

b) *injection intrapéritonéale* :

5 50 µg de PT1 sont injectés par voie intrapéritonéale, à J1 (n = 5) ; un groupe témoin reçoit du chlorure de sodium (n = 5).

2. Résultats :

a) *injection intra-tumorale* :

Ils sont illustrés dans la figure 1.

10 Le groupe témoin montre une survie moyenne de 15 jours et tous les animaux meurent avant le 23ème jour.

La survie des animaux traités par PT1 est très augmentée avec des survies à long terme (>90 jours) de 67% (p<0,01), de 88% (p<0,002) et de 50% (p<0,02) pour 15 les rats traités à J1, J5 et J9 respectivement.

Tous les animaux morts présentent des tumeurs cérébrales à l'autopsie.

Chez les rats survivants, aucun ne présente de signes neurologiques et aucune tumeur n'est trouvée à 20 l'autopsie pratiquée à J90.

L'étude histologique des cerveaux ne révèle aucune lésion inflammatoire, démyélinisante ou toxique dans le parenchyme adjacent au site d'injection.

b) *injection intrapéritonéale* :

25 Dans ces conditions le PT1 n'a pas d'effet significatif.

Exemple 2 : Comparaison des effets d'une injection intra-tumorale de PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3') sur la survie des animaux dans le modèle du gliome CNS1 du rat Lewis avec celle d'un oligodésoxynucléotide (IMM) comprenant une séquence non immunostimulante octanucléotidique (SEQ ID N° 1 5'-TGACTGTGAAGGTTAGAGATGA -3')

1. Mode opératoire :

Des cellules de gliome CNS1 cultivées *in vitro* sont greffées dans le cerveau de rat Lewis sains, à raison de 10^5 cellules dans le cortex pariétal droit de rats (Kruse C. A. et al. (1994), *J. Neurooncol*, 22 pp 191-200).

Les rats reçoivent à J1 après la greffe réalisée dans les conditions décrites à l'exemple 1, une injection intra-tumorale de 50 µg de IMM dissous dans 7 µl de chlorure de sodium ou le véhicule seul (n=5 par groupe).

2. Résultats :

La durée de vie entre le groupe témoin, ayant reçu le chlorure de sodium, et le groupe traité, ayant reçu l'IMM n'est pas statistiquement différente.

Ainsi, un oligonucléotide ne comportant pas de séquence immunostimulante ne permet pas d'augmenter la survie, à l'inverse d'un oligonucléotide comportant une telle séquence (exemple 1).

Exemple 3 : Effet d'une injection intra-tumorale de PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3') à différentes doses sur la survie des animaux dans le modèle du gliome CNS1 du rat Lewis

5 1. Mode opératoire :

Les rats reçoivent à J1 après la greffe réalisée dans les conditions décrites à l'exemple 1, une injection intra-tumorale de 1 µg, 10 µg ou 50 µg de PT1 dissous dans 7 µl de chlorure de sodium ou le véhicule seul (n= 5 par
10 groupe).

2. Résultats :

Ils sont illustrés dans la figure 2.

Une survie supérieure à 90 jours est obtenue dans 60% des cas ($p < 0,01$) après une injection unique de
15 50 µg, et dans 20% des cas (non significatif) après une dose de 10 µg.

Il n'y a aucun survivant après une dose de 1 µg (n= 5).

Tous les rats témoins sont morts.

20 Chez les rats survivants, aucun ne présente de signes neurologiques et aucune tumeur n'est trouvée à l'autopsie pratiquée à J90.

**Exemple 4 : Recherche du mécanisme des effets du PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3'), in vitro et in
25 vivo sur les cellules du gliome CNS1**

1. Mode opératoire :

a) *in vitro* :

A J0, on met des cellules de gliome CNS1 en culture. A J1, on ajoute à ces cellules PT1 à des
30 concentrations de 0,05 µM, 0,5 µM et de 5 µM et à J3 on

18

traite les cellules par de la trypsine et on mesure leur viabilité.

b) *in vivo* : voir le mode opératoire de l'exemple 1.

5 2. Résultats :

a) *in vitro*

PT1, à des concentrations de 0,05 μ M, 0,5 μ M et de 5 μ M ne possède pas d'action cytotoxique directe sur les cellules CNS1 après 48 heures de culture.

10 b) *in vivo*

En revanche, les études immunohistochimiques montrent que l'injection de 50 μ g de PT1 au sein de la tumeur, déclenche une infiltration massive de cellules NK, de lymphocytes T CD8⁺ de macrophages et de cellules microgliales alors que l'injection de chlorure de sodium est sans effet.

Ces résultats suggèrent que l'action du PT1 est due à une activation du système immunitaire au site tumoral.

20 **Exemple 5 : Effet d'une injection intratumorale de PT1, au niveau d'un site tumoral, sur le développement d'une tumeur greffée simultanément, à distance de ce site.**

1. Mode opératoire :

25 Les cellules tumorales sont greffées dans les conditions décrites à l'exemple 1, à deux sites distincts séparés de 4 mm.

Un groupe de rat (n= 7) reçoit à J5 après la greffe, une injection intra-tumorale de 50 μ g de PT1 dissous dans 7 μ l de chlorure de sodium à un seul de ces sites et le groupe contrôle (n= 6) reçoit le véhicule seul.

2. Résultats

Tous les rats du groupe contrôle meurent en moins de 25 jours alors que 44% des rats du groupe traité par PT1 ont une survie prolongée (> 90 jours), ($p < 0,05$).

5 Ces résultats montrent que l'oligonucléotide PT1 a un effet à distance et que la réponse immunitaire induite au niveau du site d'injection empêche le développement d'une tumeur greffée simultanément, à distance de ce site.

10 **Exemple 6 : Etude de la mémoire immunitaire à 3 mois dans le modèle du gliome CNS1 du rat Lewis après injection de PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3')**

1. Mode opératoire :

15 Chez des rats ($n = 5$), traités à J5 après la greffe, par 50 μ g de PT1 et ayant survécu grâce ce traitement au PT1, une nouvelle greffe de 10^6 cellules est pratiquée 12 semaines plus tard, sur un autre site du cortex cérébral dans les conditions décrites à l'exemple 1. Parallèlement, une greffe de 10^5 cellules est réalisée
20 chez des rats non traités auparavant.

2. Résultats :

A 90 jours tous les animaux préalablement traités au PT1 ont survécu sans traitement supplémentaire.

25 L'analyse histologique montre qu'il n'y a aucune tumeur résiduelle tant pour le premier site d'implantation des cellules tumorales que pour le second site.

Tous les animaux témoins sont morts.

Ces résultats montrent que les oligonucléotides ont un effet prolongé qui permet d'empêcher le développement d'une tumeur, plusieurs semaines après l'injection dudit oligonucléotide. L' "effet mémoire " observé indique que l'oligonucléotide PT1 active la mise en place d'une réponse immunitaire antitumorale spécifique.

Exemple 7 : Effet d'une injection intra-tumorale de PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3') ou d'un oligodésoxynucléotide (IMM) comprenant une séquence non immunostimulante octanucléotidique (SEQ ID N° 1 5'-TGACTGTGAAGGTTAGAGATGA -3') dans un modèle de tumeurs gliales sous-cutanées.

1. Mode opératoire :

Des cellules de gliome CNS1 cultivées *in vitro*, sont injectées par voie sous-cutanée à des rats Lewis sains, à raison de 2×10^6 cellules dans le flanc droit (Kruse C. A. et al. (1994), *J. Neurooncol.* 22 pp 191-200).

Ce modèle permet de suivre avec plus de précision la croissance de la tumeur, qui peut être aisément évaluée tous les jours chez l'animal vivant. Dans ce modèle 100% des animaux injectés développent une tumeur qui croît pendant au moins 2 semaines.

Ensuite, à J2 après l'injection des cellules tumorales, 50 μ g ou 100 μ g de PT1 ou 50 μ g d'IMM, dans 100 μ l de chlorure de sodium, sont injectés au niveau du site tumoral (groupe traité par 50 μ g de PT1, n=9 ; groupe traité par 100 μ g de PT1, n=6 ; groupe traité par 50 μ g d'IMM, n=9) ; un groupe témoin (n=9) reçoit 100 μ l de chlorure de sodium.

La croissance tumorale est mesurée tous les deux jours, et le volume tumoral est estimé au moyen de la formule :

$$\text{Vol} = (\text{longueur} \times \text{largeur} \times \text{largeur} \times \pi) / 6.$$

5 Les animaux sont sacrifiés à J12 après l'injection des cellules tumorales.

2. Résultats. :

Ils sont illustrés dans la figure 3.

10 Dans le groupe témoin, 9 animaux sur 9 ont développé une tumeur, avec un volume moyen de la tumeur à J12 d'environ 900 mm³.

Dans le groupe traité par l'IMM, 9 animaux sur 9 ont développé une tumeur, avec un volume moyen de la tumeur à J12 d'environ 1100 mm³.

15 Dans le groupe traité par PT1 50 µg, 7 animaux sur 9 ont développé une tumeur, avec un volume moyen de la tumeur à J12 d'environ 400 mm³, alors que dans le groupe traité par PT1 100 µg, seulement 3 animaux sur 6 ont développé une tumeur, avec un volume moyen de la tumeur à J12 d'environ 200 mm³.

20 L'ensemble de ces résultats confirme donc que le PT1 a un effet antitumoral marqué, lié à la présence d'une séquence immunostimulante.

Cet effet est dose-dépendant.

Exemple 8: Effet d'une injection intra-tumorale de PT1 (oligodésoxynucléotide phosphorothioate) ou de PE1 (oligodésoxynucléotide non stabilisé) dans un modèle de tumeurs gliales sous-cutanées ; PT1 et PE1 ayant tous les deux la même séquence immunostimulante (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3')

1. Mode opératoire :

Des cellules de gliome CNS1 cultivées *in vitro*, sont injectées par voie sous-cutanée à des rats Lewis sains, à raison de 2×10^6 cellules dans le flanc droit, dans les conditions décrites à l'exemple 7.

Ensuite, à J2 après l'injection des cellules tumorales, 100 μ g de PT1 ou 100 μ g de PE1 sont injectés au niveau du site tumoral (groupe traité par 100 μ g de PT1 dans 100 μ l de chlorure de sodium, n=6 ; groupe traité par 100 μ g de PE1 dans 100 μ l de chlorure de sodium, n=6) ; un groupe témoin (n=6) reçoit 100 μ l de chlorure de sodium.

La croissance tumorale est mesurée tous les deux jours, et le volume tumoral comme il est décrit dans l'exemple 7.

Les animaux sont sacrifiés à J12 après l'injection des cellules tumorales.

2. Résultats :

Ils sont illustrés dans la figure 4.

Dans le groupe témoin, 6 animaux sur 6 ont développé une tumeur avec un volume moyen de la tumeur à J12 d'environ 1200 mm³.

Dans le groupe traité par PE1, 6 animaux sur 6 ont développé une tumeur, avec un volume moyen de la tumeur à J12 d'environ 1000 mm³.

Dans le groupe traité par PT1 100 µg, seulement 3 animaux sur 6 ont développé une tumeur, avec un volume moyen de la tumeur à J12 d'environ 200 mm³.

Exemple 9 : Effet d'une injection intra-tumorale de PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3') et d'IMM (SEQ ID N° 1 5'-TGACTGTGAAGGTTAGAGATGA-3') dans le modèle du neuroblastome neuro2a chez la souris A/J

1. Mode opératoire :

La tumeur est obtenue par injection d'un million de cellules neuro2a dans le flanc droit de souris A/J (Sigal R. K. et al. (1991), *J. Pediatr. Surg.*, 26 pp 389-96). Cette tumeur grossit en 15-20 jours, aboutissant généralement au décès de l'animal ou obligeant à son sacrifice.

A J2 après l'injection de ces cellules tumorales, 50 µg ou 100 µg de PT1 ou 50 µg d'IMM dans 100 µl de chlorure de sodium ou 100 µl de chlorure de sodium (groupe témoin) sont injectés au même endroit (n=6 animaux par groupe).

La croissance tumorale est mesurée tous les quatre jours et le volume tumoral est mesuré comme indiqué dans l'exemple 7.

Les animaux sont sacrifiés à J22 après l'injection des cellules tumorales.

2. Résultats :

Ils sont illustrés dans la figure 5.

Dans ce modèle, le volume moyen de la tumeur à J22 est d'environ 800 mm³ dans le groupe témoin, d'environ 1200 mm³ dans le groupe traité par 50 µg d'IMM, d'environ 200 mm³ dans les groupes traités par 50 µg ou 100 µg de PT1.

Exemple 10 : Effet d'une injection par voie sous-cutanée ou par voie intrapéritonéale de PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3') à la dose de 50 µg dans le modèle du neuroblastome neuro2a chez la souris A/J

5 1. Mode opératoire :

La tumeur est obtenue selon le mode opératoire décrit dans l'exemple 9.

A J2 après l'injection des cellules tumorales, 50 µg de PT1 dans 100 µl de chlorure de sodium ou 100 µl
10 de chlorure de sodium (groupe témoin) sont injectés soit par voie sous-cutanée à distance de la tumeur, soit par voie intrapéritonéale (n=6 animaux par groupe).

La croissance tumorale est mesurée tous les quatre jours et le volume tumoral est mesuré comme indi-
15 qué dans l'exemple 7.

Les animaux sont sacrifiés à J22 après l'injection des cellules tumorales.

2. Résultats :

Ils sont illustrés dans la figure 6.

20 Dans ce modèle, le volume moyen de la tumeur à J22 est d'environ 1000 mm³ dans le groupe témoin, d'environ 400 mm³ dans le groupe traité par 50 µg de PT1 injecté par voie sous-cutané et d'environ 500 mm³ dans le groupe
25 traité par 50 µg de PT1 injecté par voie intrapéritonéale.

Exemple 11 : Effet d'une injection répétée par voie sous-cutanée de PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3') ou d'IMM (SEQ ID N° 1 5'-TGACTGTGAAGGTTAGAGATGA-3') à la dose de 10 µg pendant 15 jours dans le modèle du neuroblastome neuro2a chez la souris A/J

1. Mode opératoire :

La tumeur est obtenue selon le mode opératoire décrit dans l'exemple 9.

La croissance tumorale est mesurée régulièrement chez tous les animaux et lorsque le diamètre de la tumeur atteint 5 mm, PT1 est injecté, par voie sous-cutanée, autour de la tumeur, pendant 15 jours, à la dose de 10 µg par jour dans 100 µl de chlorure de sodium (groupe traité par PT1, n=7) ou IMM est injecté par voie sous-cutanée autour de la tumeur pendant 15 jours à la dose de 10 µg par jour dans 100 µl de chlorure de sodium (groupe traité par IMM, n=4) ou 100 µl de chlorure de sodium est injecté par voie sous-cutanée autour de la tumeur pendant 15 jours (groupe témoin, n=6).

2. Résultats :

Dans le groupe témoin et dans le groupe traité par l'IMM, la croissance tumorale n'est pas ralentie et tous les animaux de ces deux groupes meurent de leur tumeur.

Dans le groupe traité par PT1, la disparition complète de la tumeur, sans récurrence à long terme, est observée chez 3 souris ; chez 3 autres les tumeurs se stabilisent pendant 3 semaines mais reprennent ensuite leur progression jusqu'aux décès des animaux.

Ces résultats montrent que les oligonucléotides immunostimulants stabilisés utilisés selon l'inven-

tion, possèdent un effet anti-tumoral intrinsèque marqué, lié à la présence de la séquence immunostimulante et à leur stabilisation.

Exemple 12 : Effet de la stabilisation d'un oligonucléotide (SEQ ID N :9 5'-TGACTGTGAACGTTATAGATGA-3') sur l'activité antitumorale dans un modèle de tumeurs gliales sous-cutanées

1. Mode opératoire :

Des cellules de gliome CNS1 cultivées *in vitro*, sont injectées par voie sous-cutanée à des rats Lewis sains, à raison de 2×10^6 cellules dans le flanc droit (Kruse C. A. et al. (1994), *J. Neurooncol.* 22 pp 191-200).

A J2 après l'injection des cellules tumorales, 50 µg des oligonucléotides possédant les différentes liaisons chimiques sont injectés au niveau du site tumoral et le volume tumoral est mesuré à J10 (groupes traités par un oligonucléotide de liaison : phosphorothioate (PT, n= 9), phosphodiester (PDE, n= 8), méthylphosphonate (MP, n= 9) ; phosphodiester stabilisé en 3' par une base didésoxycytosine (groupe 3', n= 7), ou mixte : phosphodiester avec les trois premières liaisons en 5' et les trois dernières liaisons en 3' du type phosphorothioate (groupe mixte, n= 9). Le groupe témoin reçoit 100 µl de chlorure de sodium (NaCl n= 9).

2. Résultats :

Ils sont illustrés dans la figure 7

Dans ce modèle, les ODN les plus efficaces sont, les oligonucléotides de type phosphorothioate, stabilisés en 3', ou mixte, avec une diminution du volume tumoral de respectivement 50 %, 53 % et 34 %, par rapport au volume des témoins.

Exemple 13 : Effet des séquences 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-X₁X₂-3' sur la modulation de l'activité antitumorale

1. Mode opératoire :

Des cellules de gliome CNS1 cultivées *in vitro*, sont injectées par voie sous-cutanée à des rats Lewis sains, à raison de 2x10⁶ cellules dans le flanc droit (Kruse C. A. et al. (1994), *J. Neurooncol.* 22 pp 191-200).

A J2 après l'injection des cellules tumorales, 50 µg des différents oligonucléotides (SEQ ID NO :2 à 13) sont injectés au niveau du site tumoral et le volume tumoral est mesuré à J10 (figure 8 à 10) ou à J8 (figure 11).

2. Résultats

2.1. Effet de la séquence des oligonucléotides sur l'efficacité antitumorale

Les résultats sont illustrés à la figure 8.

L'oligonucléotide PT1 (SEQ ID N° 2 5'-TGACTGTG AACGTTTCGAGATGA-3') utilisé précédemment (exemples 1 à 10) est moins efficace que l'oligonucléotide An 2 (SEQ ID NO :8 5'-TGCCAGTGACGTCATGTGAC-3').

La différence d'efficacité de ces deux oligonucléotides est liée soit à la séquence du motif hexamérique 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-3' comprenant le motif CG non méthylé (séquence soulignée) soit aux séquences adjacentes à ce motif.

2.2. Effet de la séquence du motif hexamérique 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-3' et des séquences adjacentes sur l'efficacité antitumorale des oligonucléotides.

Les résultats sont illustrés à la figure 9

Ils montrent que des oligonucléotides possédant un motif hexamérique différent, GACGTC (An2, SEQ ID NO :8 5'-TGCCAGTGACGTCATGTGAC-3') ou AACGTT (An21, SEQ ID NO :10 5'-TGCCAGTAACGTTATGTGAC-3') et des séquences adjacentes identiques ont la même efficacité antitumorale.

En conséquence les différences d'efficacité observées, à l'exemple 2.1, entre les oligonucléotides PT1 et An2 sont liées à la nature des séquences adjacentes au motif hexamérique. Les séquences antitumorales optimales se trouvent dans les séquences adjacentes de l'oligonucléotide An2.

2.3.Effet des 2 bases (X_1X_2) adjacentes à la séquence 3' du motif hexamérique 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-3' sur l'efficacité antitumorale

Les résultats sont illustrés à la figure 10.

Ils montrent que les 2 bases adjacentes à la séquence 3' du motif hexamérique, à elles seules, modulent l'efficacité des oligonucléotides puisque 2 oligonucléotides identiques sur toute leur séquence à l'exception de ces 2 nucléotides ont des efficacités différentes, de l'ordre de celles précédemment observées avec les oligonucléotides de l'exemple 2.1. Ainsi, l'oligonucléotide An 14 (SEQ ID NO :3 5'-TGACTGTGAACGTTCCAGATGA-3') est moins efficace que l'oligonucléotide An 15 (SEQ ID NO :9 , 5'-TGACTGTGAACGTTATAGATGA-3'). Les nucléotides AT en 3' du motif hexamérique (An2 (figure 8) et An 15 (figure 10) permettent d'augmenter l'efficacité antitumorale, alors que les nucléotides CC (An 14, figure 10) et CG (PT1, figure 8) ont des effets antitumoraux moins marqués.

2.4. Effet de différentes séquences X_1X_2 sur l'efficacité antitumorale

Les résultats sont illustrés à la figure 11

L'effet antitumoral optimal est observé avec
 5 les séquences X_1X_2 = AT, AA, CT ou TT (An2 SEQ ID NO :8 5'-TGCCAGTGACGTCATGTGAC-3' ; An22 SEQ ID NO :11 5'-TGCCAGTAACGTTAAGTGAC-3' ; An25 SEQ ID NO :12 5'-TGCCAGTAACGTTCTGTGAC-3 ; An27 SEQ ID NO :13 5'-TGCCAGTAACGTTTGTGAC-3').

10 Les séquences X_1X_2 = AC, AG, GT et CC et CG (An23 SEQ ID NO :4 5'-TGCCAGTAACGTTACGTGAC-3' ; An24 SEQ ID NO :5 5'-TGCCAGTAACGTTAGGTGAC-3' ; An26 SEQ ID NO :6 5'-TGCCAGTAACGTTGTGTGAC-3' ; An 28 SEQ ID NO :7 5'-TGCCAGTAACGTTCCGTGAC-3' et PT1 SEQ ID N° 2
 15 5'-TGACTGTGAACGTTCGAGATGA-3' (voir figure 8)) n'améliorent pas l'activité antitumorale des oligonucléotides possédant un motif hexamérique 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine-3'.

Ces résultats montrent que l'ensemble
 20 d'oligonucléotides stabilisés du type 5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine- X_1X_2 -3' avec X_1X_2 = AA, AT, CT ou TT a une activité antitumorale optimisée.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés qui comprennent au moins un motif octamérique du type :
5'-purine-purine-CG-pyrimidine-pyrimidine- X_1X_2 -3', dans
5 lequel la paire X_1X_2 est AT, AA, CT ou TT, pour la préparation d'un médicament à action antitumorale.
2. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon la revendication 1 caractérisée en ce que lesdits oligonucléotides comprennent au moins une séquence octa-
10 mérique sélectionnée dans le groupe constitué par : AACGTT- X_1X_2 , GACGTT- X_1X_2 , AGCGTT- X_1X_2 , GGCGTT- X_1X_2 , AACGTC- X_1X_2 , GACGTC- X_1X_2 , AGCGTC- X_1X_2 et GGCGTC- X_1X_2 , dans laquelle X_1X_2 est AT, AA, CT ou TT.
3. Utilisation selon l'une quelconque des re-
15 vendications 1 et 2, caractérisée en ce que l'oligonucléotide est choisi dans le groupe constitué par les séquences SEQ ID N° 8 à SEQ ID N°48.
4. Utilisation selon l'une quelconque des re-
vendications 1 à 3, caractérisée en ce qu'au moins une
20 cytosine du motif octamérique est remplacée par une cytosine modifiée.
5. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caracté-
risée en ce que les oligonucléotides stabilisés sont sé-
25 lectionnés dans le groupe constitué par les phosphorothioates, les phosphorodithioates, les oligonucléotides mixtes phosphodiester-phosphorothioates, les méthylphosphonates et les oligonucléotides dont au moins une extrémité a été stabilisée.
- 30 6. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caracté-

risée en ce que les oligonucléotides sont sous forme de simple brin ou de double brin.

7. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caracté-
5 risée en ce que les oligonucléotides comprennent au moins 8 nucléotides, et de préférence entre 20 nucléotides et 100 nucléotides.

8. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caracté-
10 risée en ce que les oligonucléotides sont couplés par des liaisons covalentes, ioniques ou faibles à une molécule susceptible d'augmenter l'affinité tumorale.

9. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, pour la
15 préparation d'un médicament destiné au traitement des cancers chez l'homme, quels que soient leur nature et leur degré d'anaplasie.

10. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon la revendication 9, caractérisée en ce que le can-
20 cer est choisi dans le groupe constitué par les cancers des systèmes nerveux central et périphérique.

11. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon la revendication 9, caractérisée en ce que le can-
cer est choisi dans le groupe constitué par les astrocy-
25 tomes, les glioblastomes, les médulloblastomes, les neuroblastomes, les mélanomes et les carcinomes.

12. Utilisation des oligonucléotides stabilisés selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, caractérisée en ce que le médicament est administré par
30 voie intratumorale.

13. Utilisation d'oligonucléotides stabilisés selon la revendication 12, caractérisée en ce que le

médicament est administré de manière à avoir une dose de 10 à 1000 µg/g de tumeur, au moins dans une partie de la masse tumorale.

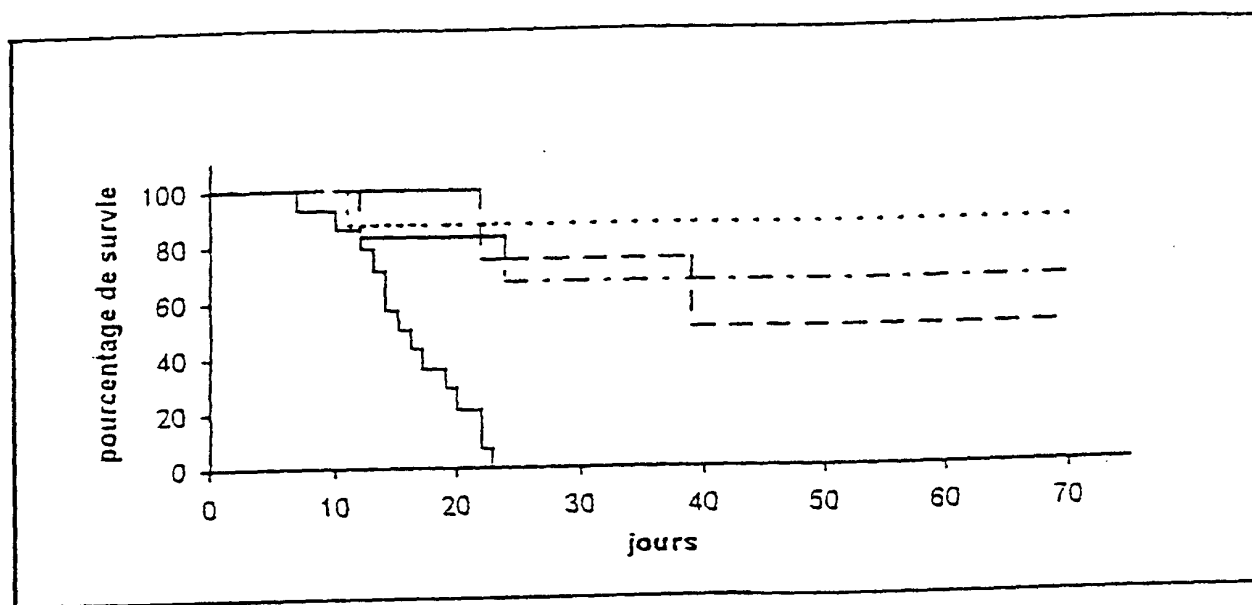
14. Utilisation des oligonucléotides stabilisés selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, caractérisée en ce que le médicament est administré par une voie choisie dans le groupe constitué par les voies intraveineuse, intrapéritonéale, topique, transdermique, sous-cutanée, intra-artérielle, pulmonaire, naso-pharyngée ou orale.

15. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 9 à 14, caractérisée en ce que les oligonucléotides stabilisés sont associés à tout moyen physique ou chimique facilitant l'obtention d'une dose efficace au site tumoral.

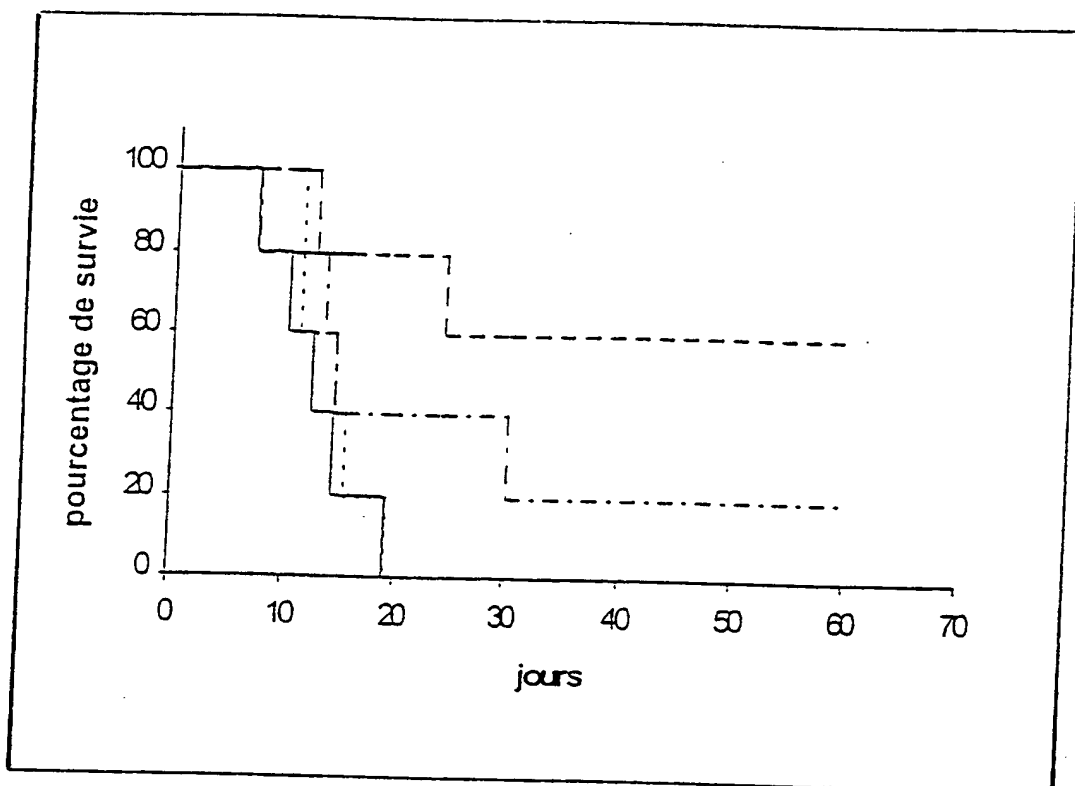
16. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 9 à 15, caractérisée en ce que les oligonucléotides sont administrés sous toute forme pharmaceutiquement acceptable.

17. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 9 à 16, caractérisée en ce que les oligonucléotides sont associés avec des cellules du système immunitaire, des adjuvants de l'immunité, des cytokines, des anticorps anti-tumoraux, des extraits tumoraux, des antigènes tumoraux ou des cellules tumorales normales, irradiées ou génétiquement modifiées.

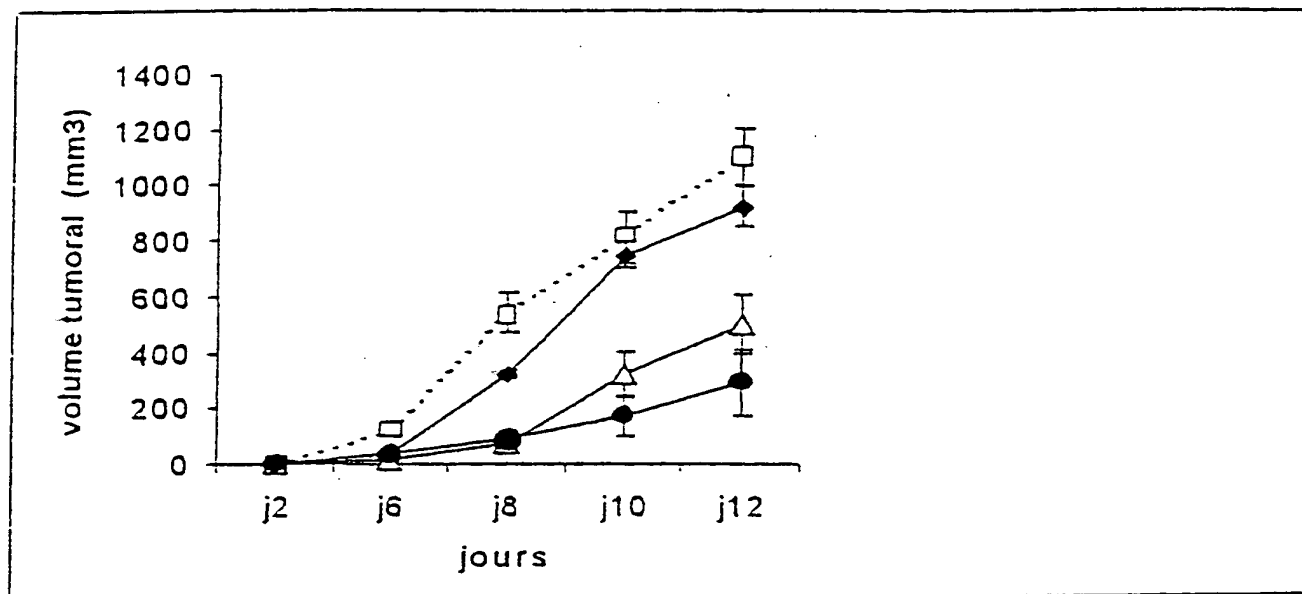
1/11

FIGURE 1

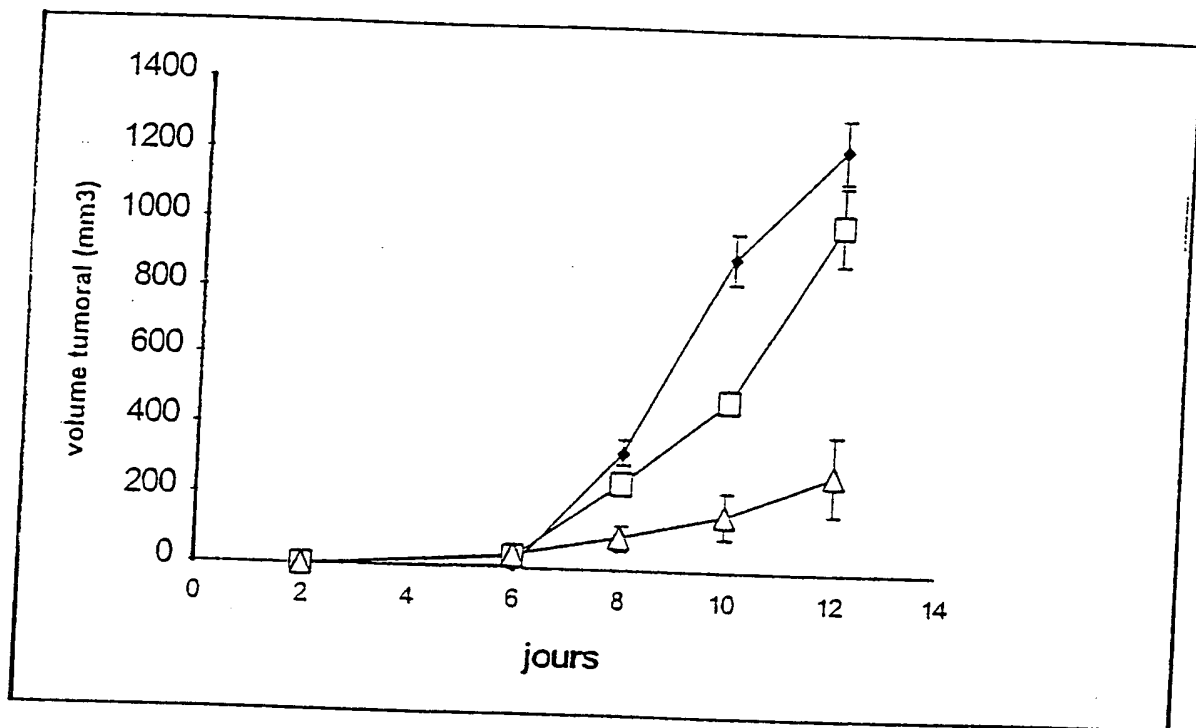
2/11

FIGURE 2

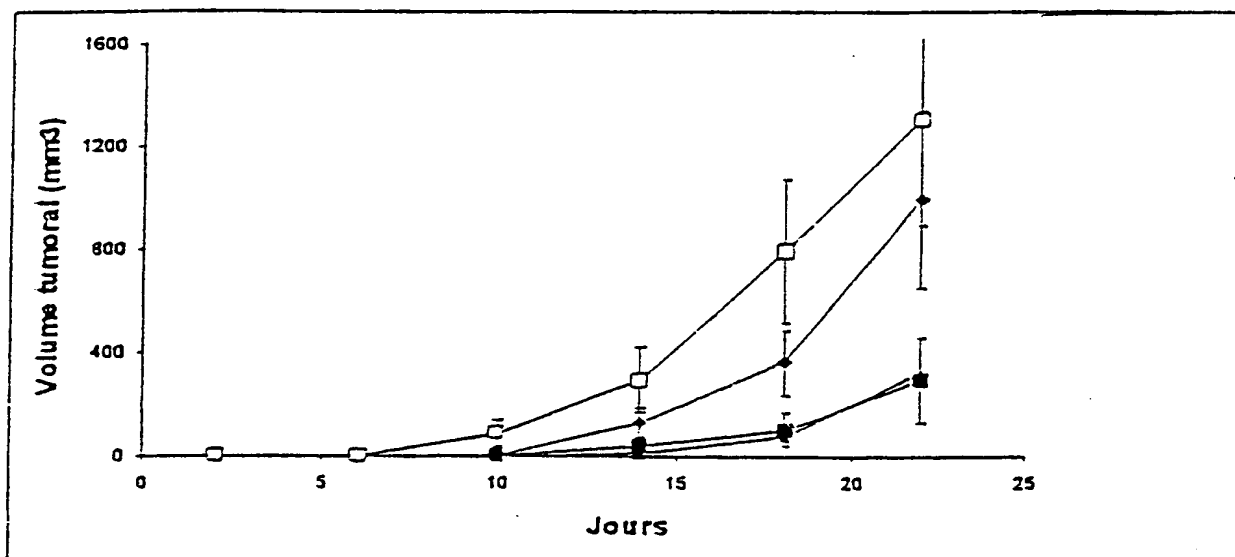
3/11

**FIGURE 3**

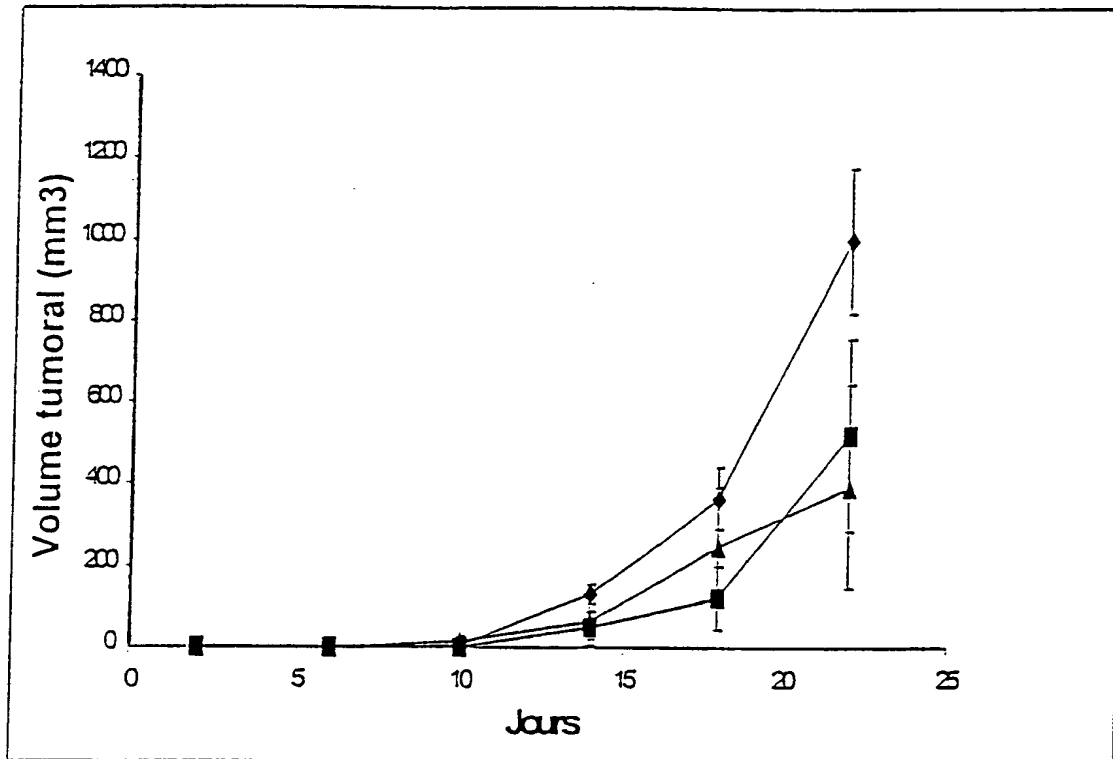
4/11

**FIGURE 4**

5/11

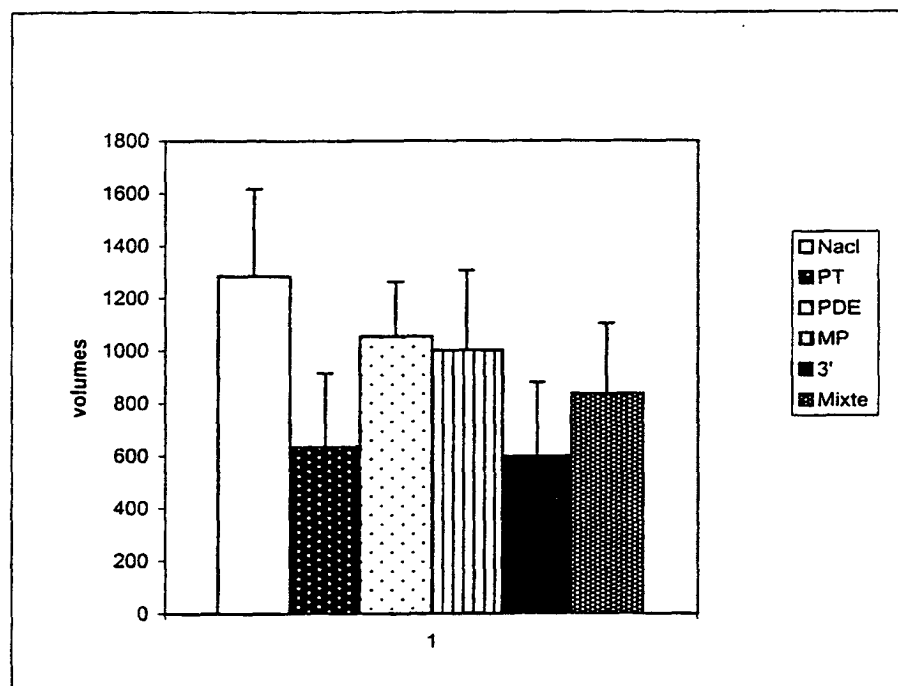
FIGURE 5

6/11

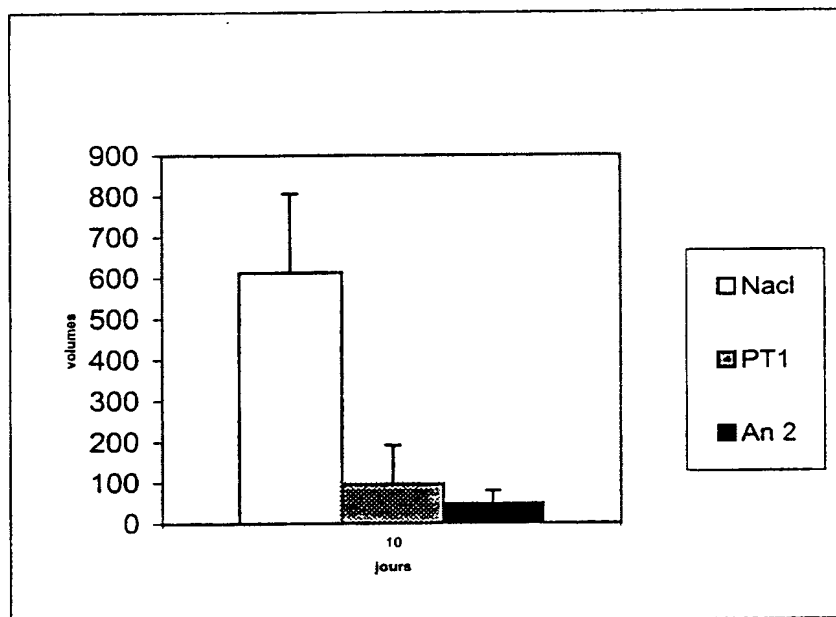
**FIGURE 6**



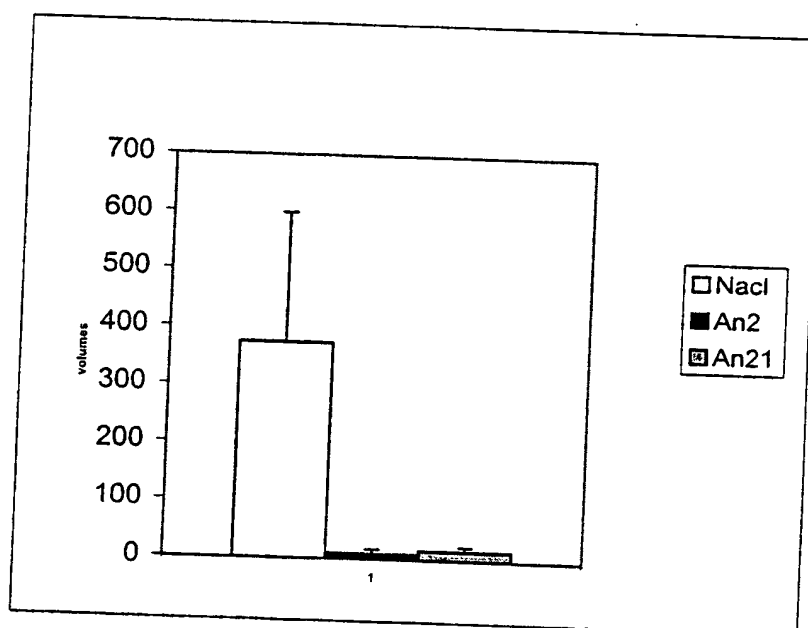
7/11

**FIGURE 7**

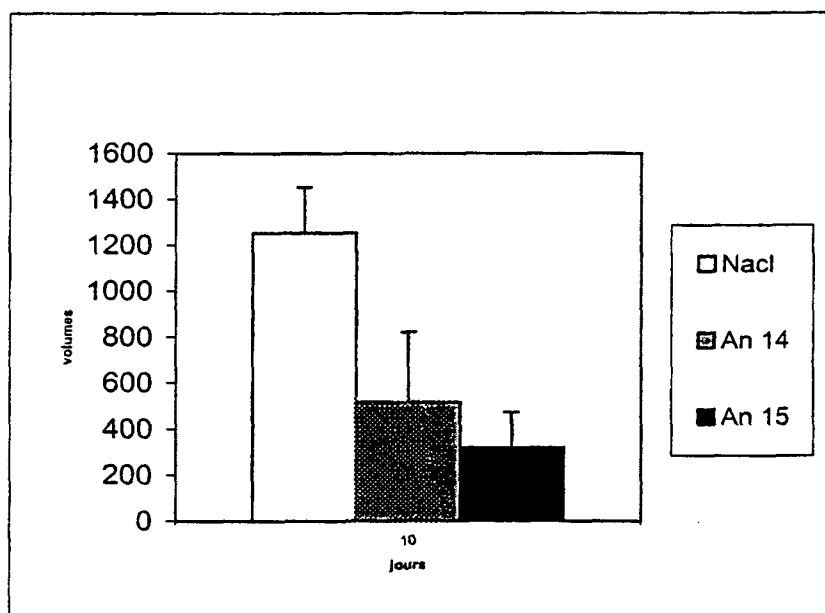
8/11

**FIGURE 8**

9/11

**FIGURE 9**

10/11

**FIGURE 10**

11/11

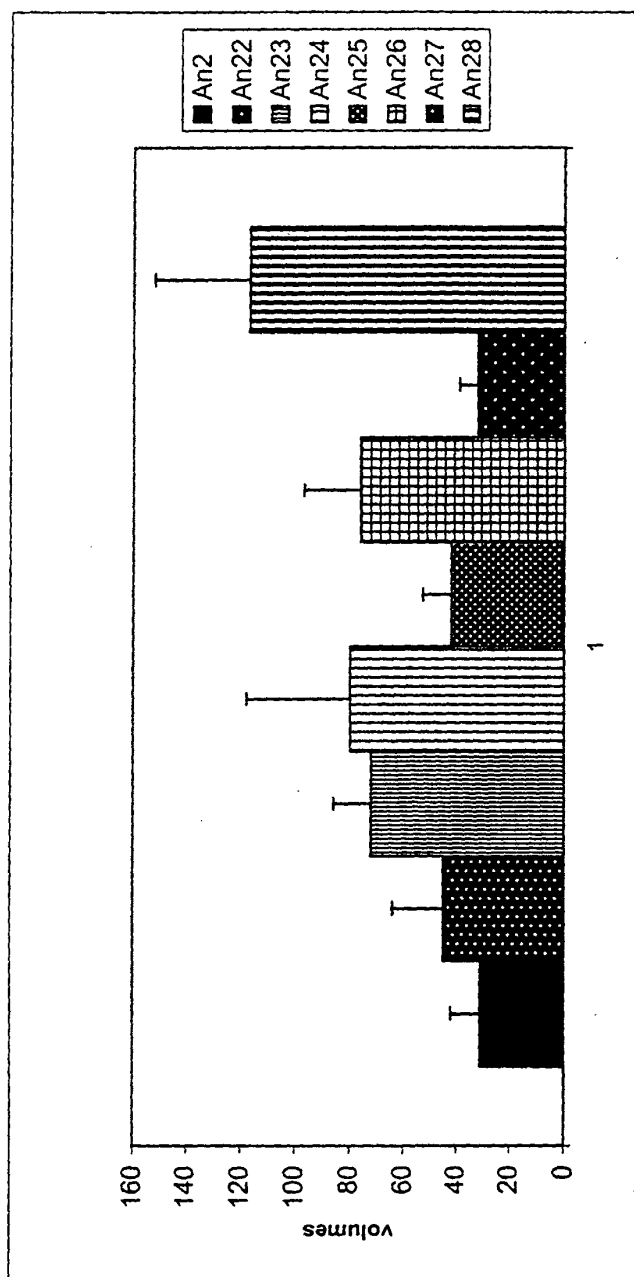


FIGURE 11

LISTE DE SEQUENCES

<110> ASSISTANCE PUBLIQUE- HOPITAUX DE PARIS
UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE- PARIS VI
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE M
CARPENTIER, Antoine

<120> UTILISATION D'OLIGONUCLEOTIDES STABILISES POUR LA
PREPARATION D'UN MEDICAMENT A ACTION ANTITUMORALE

<130> 10208EXT

<140>
<141>

<160> 48

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 22
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 1
tgactgtgaa ggtagagat ga 22

<210> 2
<211> 22
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 2
tgactgtgaa cgtagagat ga 22

<210> 3
<211> 22
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 3
tgactgtgaa cgtagagat ga 22

<210> 4
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 4
tgccagtaac gttacgtgac 20

<210> 5
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 5
tgccagtaac gttaggtgac 20

<210> 6
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 6
tgccagtaac gttgtgtgac 20

<210> 7
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 7
tgccagtaac gttccgtgac 20

<210> 8
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 8
tgccagtgcac gtcacgtgcac 20

<210> 9
<211> 22
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 9
tgactgtgaa cggtatagat ga 22

<210> 10
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 10
tgccagtaac gttatgtgcac 20

<210> 11
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 11
tgccagtaac gttacgtgcac 20

<210> 12
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 12
tgccagtaac gttctgtgcac 20

<210> 13
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 13
tgccagtaac gttttgtgac 20

<210> 14
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 14
gtatgacgac gtcattctagc 20

<210> 15
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 15
tactgcagac gtcattatgc 20

<210> 16
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 16
ataacggttat gtaacggttat 20

<210> 17
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 17

atgacgtcat gtgacgtcat

20

<210> 18

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 18

atgacgtcat gtaacgttat

20

<210> 19

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 19

tgaacgttat tgaacgttat

20

<210> 20

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 20

tggacgtcat tggacgtcat

20

<210> 21

<211> 20

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 21
tggacgtcat tgaacgttat 20

<210> 22
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 22
aggacgtcaa tgaacgttaa 20

<210> 23
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 23
agaacgttaa tgaacgttaa 20

<210> 24
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 24
aggacgtcaa tggacgtcaa 20

<210> 25
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 25
aggacgtctt gtaacgtttt 20

<210> 26
<211> 20

<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 26
agaacgtttt gtaacgtttt 20

<210> 27
<211> 19
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 27
aggacgtctt gtgacgttt 19

<210> 28
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 28
ttgacgtcct ttaacgttct 20

<210> 29
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 29
ttaacgttct ttaacgttct 20

<210> 30
<211> 20
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide



<400> 30
ttgacgtcct ttgacgtcct 20

<210> 31
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 31
taaacggttat aacggtataa cggttat 26

<210> 32
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 32
tagacgtcat gacgtcatga cgcat 26

<210> 33
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 33
taaacggttat aacggtatga cgcat 26

<210> 34
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 34
taaacggttat gacgtcatga cgcat 26

<210> 35
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 35
tagacgtcat aacgttataa cggtat 26

<210> 36
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 36
taaacgttaa aacgttaaaa cggttaa 26

<210> 37
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 37
tagacgtcaa gacgtcaaga cgtcaa 26

<210> 38
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 38
taaacgttaa aacgttaaga cgtcaa 26

<210> 39
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 39
taaacgttaa gacgtcaaga cgtcaa 26

<210> 40
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 40
tagacgtcaa aacgttaaaa cgttaa 26

<210> 41
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 41
taaacgttct aacgttctaa cgttct 26

<210> 42
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 42
tagacgtcct gacgtcctga cgtcct 26

<210> 43
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 43
taaacgttct aacgttctga cgtcct 26

<210> 44
<211> 28
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 44
taaacgtttt aaacgtttta aacgtttt 28

<210> 45
<211> 28
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 45
tagacgtctt agacgtctta gacgtctt 28

<210> 46
<211> 28
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 46
taaacgtttt aaacgtttta gacgtctt 28

<210> 47
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>
<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 47
tcaacgttat aacgttataa cgttat 26

<210> 48
<211> 26
<212> ADN
<213> Séquence artificielle

<220>

<223> Description de la séquence artificielle:
oligodésoxynucléotide

<400> 48

tcgacgcat gacgcatga cgcat

09/989057
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

47

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference BLOjp1020/8P	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR00/00676	International filing date (day/month/year) 17 March 2000 (17.03.00)	Priority date (day/month/year) 19 March 1999 (19.03.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/70		
Applicant ASSISTANCE PUBLIQUE-HOPITAUX DE PARIS		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>10</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input checked="" type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 11 October 2000 (11.10.00)	Date of completion of this report 12 July 2001 (12.07.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR00/00676

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages 1-29, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
pages 1-17, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the drawings:
pages 1/11-11/11, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
pages 7,11-14,16-17,19-20,22-29, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☒ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR00/00676

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 1-17 See separate sheet

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. _____
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1-17

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR00/00676

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See separate sheet.

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☐ all parts.
- ☒ the parts relating to claims Nos. 1-17

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: Boxes III and IV.

Box III

1. An incomplete search report has been produced for Claims 1, 2 and 4-17 because these claims concern a great variety of compounds (see PCT/ISA/210 and Box I, 2).
2. Only those parts of Claims 1-17 relating to **inventions I and VI** for which a search report has been produced have been considered in the present preliminary examination report (see Box IV and the search report; PCT/ISA/210).

Box IV

The objection raised by the searching authority regarding a lack of unity (see search report) is maintained.

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims		YES
	Claims	1-17 (all in parts)	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-17 (all in parts)	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17 (all in parts)	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations**A. INVENTION I (Claims 1-17, all in parts)**

1. The following opinion as to novelty, inventive step and industrial applicability applies only to the subject matter concerning the (parts of the) claims for which a search report has been produced (PCT Rule 66.1(e)), based on the documents cited in the search report.

2. The following documents are referred to:

D1: EP-A-0 855 184

D2: WO-A-98/18810

D3: WO-A-97/44346

D4: WO-A-94/25588

D5: WO-A-99/12027

D6: EP-A-0 468 520

D7: US-A-5 734 033

D8: CONNELL Y.S. ET AL.: "Anti-tumor activity of a CpG-containing oligodeoxynucleotide (ODN) in athymic mice", PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL MEETING (MARCH 1999), Vol. 40, page 299.

3. Novelty

D1 discloses compounds comprising oligonucleotides with 100, preferably 5-40 or 15-25, single-stranded or double-stranded nucleotides including the octamer motif AACGTTCT, stabilised by phosphorodithioate groups, for the treatment of tumours (page 3, lines 33-35, 52-54 and 58; page 4, lines 29-31 and 55-59; page 5, lines 20-21; page 6, line 36; Example 8; sequence 2; Claims 1, 7 and 12). Consequently, D1 deprives Claims 1, 2, 5-7, 9, 12 and 15-17 of novelty.

D2 discloses compounds comprising oligonucleotides with between 8 and 30 bases, including the octamer motif AACGTTCT, stabilised by phosphorodithioate groups and containing a modified cytosine, which are useful for treating cancers such as leukaemia (page 10, lines 16-17 and 25-28; page 18, line 28, to page 19, line 3 and lines 5-6; page 22, lines 8-28; sequence 22); it therefore deprives Claims 1-4, 7-8, 11 and 15-17 of novelty.

D3 describes compositions comprising oligonucleotides containing octamer motifs such as AACGTTTT, stabilised by phosphorodithioates, for the treatment of tumours (page 17, lines 6-23; page 19, line 30, to page 20, line 22; Claims 4 and 10; sequences 20-24).

Consequently, the subject matter of Claims 1, 2, 4-7, 9 and 12-16 is not novel in relation to D3.

D4 describes pharmaceutical compositions for the treatment of cancers such as neurofibromas or glioblastomas, comprising oligonucleotides stabilised by phosphorodithioate groups and containing the motif GACGTCAA (sequence 77, claims). D4 therefore deprives Claims 1, 5-7, 9-11 and 16 of novelty.

D5 discloses pharmaceutical compositions comprising

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 00/00676

oligonucleotides for the treatment of cancers, including the motif GACGTCAA or GACGTCAT and modified cytosines (claims, sequences 11 and 12). D5 therefore anticipates the subject matter of Claims 1, 4-7, 9 and 16.

4. In the event that the applicant succeeds in remedying the foregoing objections concerning novelty, the following documents should be considered in connection with inventive step:
- D6 describes oligonucleotides containing the palindrome AACGTT (sequence 39) for the treatment of cancers (page 4, line 48; page 6, lines 34-44; page 7, lines 11-20; Claims 12 and 21).
 - D7 describes antisense oligonucleotides with a sequence similar to the claimed octamer motif, for the treatment of cancers (sequence 5; abstract).
 - D8 describes the treatment of glioblastomas using oligonucleotides stabilised by phosphorodithioates and containing CpG (abstract).

5. **Industrial Applicability**

There are no uniform criteria in the PCT Contracting States for determining whether claims 1-17 are industrially applicable. Patentability may also depend on the wording of the claims. Thus, the European Patent Office does not consider the subject matter of claims to the use of a compound for medical purposes to be industrially applicable. However, claims to a first medical use of a known compound, and claims to the use of such a compound in the production of a drug for a novel medical treatment can be accepted.

B. INVENTION VI (Claims 1-17, all in parts)

1. The following opinion as to novelty, inventive step and industrial applicability applies only to the subject matter concerning the (parts of the) claims for which a search report has been produced (PCT Rule 66.1(e)), based on the documents cited in the search report.

2. The following documents are referred to:

D1: EP-A-0 855 184

D2: WO-A-98/18810

D3: WO-A-97/44346

D4: WO-A-94/25588

D5: WO-A-99/12027

D6: EP-A-0 468 520

D7: US-A-5 734 033

D8: CONNELL Y.S. ET AL.: "Anti-tumor activity of a CpG-containing oligodeoxynucleotide (ODN) in athymic mice", PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL MEETING (MARCH 1999), Vol. 40, page 299.

3. Novelty

D1 (see reasons and citations in part A) destroys the novelty of Claims 1, 5-7, 9, 12 and 15-17.

D2 (see reasons and citations in part A) destroys the novelty of Claims 1, 3-4, 7-8, 11 and 15-17.

D3 (see reasons and citations in part A) anticipates the subject matter of Claims 1, 4-7, 9 and 12-16.

D4 (see reasons and citations in part A) destroys the novelty of Claims 1, 2, 5-7, 9-11 and 16.

D5 (see reasons and citations in part A) destroys the novelty of Claims 1, 2, 4-7, 9 and 16.

4. Inventive Step

See part A, point 4, above.

5. Industrial Applicability

See part A, point 5, above.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 00/00676

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

There appears to be a contradiction between the description
on page 11, line 6, which describes SEQ. ID N° 2 as:

TGACTGTGAAGTTCGAGATGA

and page 11, line 16, which describes SEQ. ID N° 2 as:

TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA

(see also page 14, line 19).

